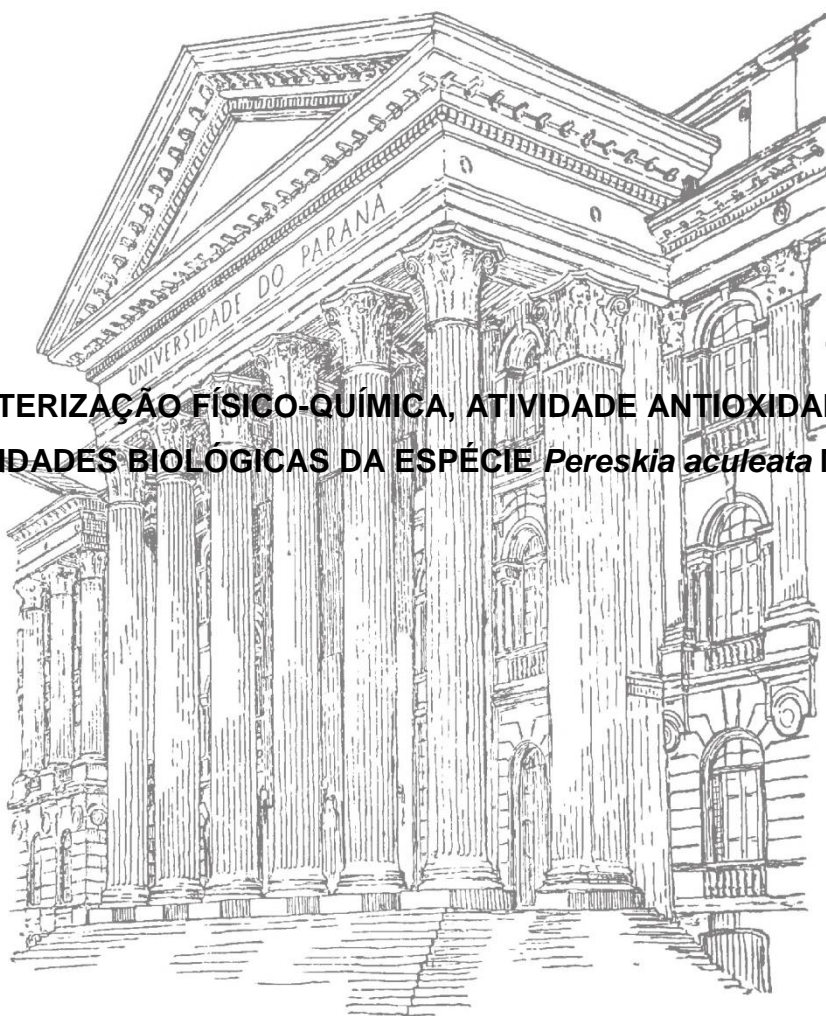


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRUNA ISADORA TRENNEPOHL

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA ESPÉCIE *Pereskia aculeata* Mill**



CURITIBA

2016

BRUNA ISADORA TRENNEPOHL

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA ESPÉCIE *Pereskia aculeata* Mill**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição, área de concentração Qualidade dos Alimentos e Nutrição, setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Alimentação e Nutrição.

Orientador: Dr. Obdulio Gomes Miguel
Coorientadora: Dr^a. Sila Mary Rodrigues Ferreira

CURITIBA

2016

Trennepohl, Bruna Isadora
Caracterização físico-química, atividade antioxidante e atividades biológicas da espécie *Pereskia aculeata* Mill / Bruna Isadora Trennepohl – Curitiba, 2016.
97 f. : il. (algumas color.) ; 30 cm

Orientador: Professor Dr. Obdulio Gomes Miguel
Coorientadora: Professora Dra. Sila Mary Rodrigues Ferreira
Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição, Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Inclui bibliografia

1. *Pereskia aculeata* Mill. 2. Antioxidante. 3. Proteínas de vegetais comestíveis. 4. Fitoquímicos.
5. Hortaliças não-convencionais. I. Miguel, Obdulio Gomes. II. Ferreira, Sila Mary Rodrigues.
III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 612.3



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor CIÊNCIAS DA SAÚDE
Programa de Pós Graduação em ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO
Código CAPES: 40001016074P7

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de BRUNA ISADORA TRENNEPOHL, intitulada: "Caracterização Nutricional, atividade antioxidante e atividades biológicas da espécie Pereskia aculeata Miller", após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua

aprobacao

Curitiba, 29 de Julho de 2016.

Prof OBDULIO GOMES MIGUEL
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

Prof CRISTIANE DA SILVA PAULA
Avaliador Externo (UFPR)

Prof JOSIANE DE FÁTIMA GASPARI DIAS
Avaliador Externo (UFPR)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus. Obrigada por esta conquista! Pela fé, pela força, pelo amparo, por me guiar e por me fornecer capacidade de aprender com o que a vida coloca em meu caminho.

Aos meus pais Bruno e Odilce, grandes incentivadores, obrigada pelos valores, pela educação, pela dedicação e pela vida.

Ao meu namorado Emanuel, obrigada não só pela ajuda com as coletas, mas por todo apoio e amor nesses dois anos.

À minha irmã Joanna, pela companhia e por entender a bagunça e as madrugadas com a luz acesa.

À Universidade Federal do Paraná, e ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pesquisa Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro à pesquisa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel e coorientadora Prof^a Dr^a Sila Mary Rodrigues Ferreira pela confiança, paciência e ensinamentos transmitidos.

Aos professores das disciplinas do Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição e do Departamento de Nutrição, por todos os ensinamentos e experiências trocadas.

Aos professores, mestrandos e doutorandos do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, e aos técnicos dos laboratórios de Fitoquímica e Farmacotécnica, pelo apoio e auxílio no andamento da pesquisa.

À Cristiane Fagundes, ao doutorando Francis Merino e a pós-doutoranda Marlene Bampi, por compartilharem seus conhecimentos, seu tempo, e me ajudarem nos testes. À Vânia Maria Barbosa, por se juntar à minha pesquisa e continuar os estudos com a ora-pro-nobis. Obrigada a todos pela amizade, pelas conversas e risadas.

Às mestrandas Ágatha, Andrieli, Andreia, Cellen, Êmellie, Josiane, Lígia, Maria Fernanda, Marília, Natália e Patrícia, pela amizade construída,

companheirismo, parceria, por todas as conversas e trabalho em conjunto. Sentirei saudades.

À dona Carmem e à agrônoma Ana Simone Richter, do Centro Paranaense de Referência em Agroecologia, por autorizarem a coleta da planta.

Ao biólogo José Tadeu Weidlich Motta, pelas informações, identificação e depósito do exemplar da espécie em estudo no Herbário do Museu Botânico Municipal.

Aos técnicos Jair Lima, Lindamir Tullio, Adriana Serenato, Paulo Sérgio Diniz, Maria da Graça Teixeira de Toledo e Mauricio Passos, por contribuírem para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao secretário Mauro Cesar Uchida pela paciência e sanar todas as nossas dúvidas.

E a todos que eventualmente não estão citados, mas que, com certeza, participaram direta ou indiretamente para a realização e término deste trabalho.

“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada.
Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.”

Cora Coralina

RESUMO

A espécie *Pereskia aculeata* Mill, popularmente conhecida como ora-pro-nobis (OPN), pertence a um grupo de hortaliças conhecidas como não-convencionais, ou tradicionais, que atualmente tem seu cultivo e consumo diminuído em todas as regiões do país, devido à globalização e ao crescente uso de alimentos industrializados. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar a composição físico-química das folhas e dos frutos da OPN, bem como a atividade antioxidante e biológica das folhas. Para tanto, foram coletadas folhas frescas e frutos em três estádios de maturação (verde, intermediário e maduro) em dois pontos distintos na cidade de Curitiba – PR. Para a caracterização físico-química, foram determinados os valores de umidade, pH, cinzas, teor de sólidos solúveis, acidez titulável, proteínas, lipídeos, carboidratos, fibras e valor energético das folhas e dos frutos da OPN. As análises de antioxidantes das folhas envolveram ensaios de potencial de redução do DPPH•, ensaio do ácido tiobarbitúrico (TBARS), formação do complexo fosfomolibdênio, conteúdo fenólico e flavonoides totais, e carotenoides (β -caroteno e licopeno), enquanto no fruto foram avaliados apenas os carotenoides totais. As atividades biológicas envolveram a atividade hemolítica e a avaliação da toxicidade preliminar *in vitro* frente à *Artemia salina*. O estudo revelou quantidades significativas de proteínas e fibras alimentares nas folhas da espécie *P. aculeata*. A espécie não apresentou toxicidade em ambos os extratos brutos das folhas, sendo que algumas frações apresentaram toxicidade moderada desde as primeiras 24h. Os resultados indicam que as folhas de OPN são boa fonte de proteínas e fibras alimentares. Estudos para identificar os fitoquímicos responsáveis por essa possível toxicidade, além da pesquisa da quantidade segura de ingestão e melhor modo de preparo para seu consumo são necessários. As análises de caracterização físico-química revelaram que os frutos da ora-pro-nobis durante a maturação apresentam aumento significativo dos valores de pH, sólidos solúveis totais, glicose, frutose, sacarose, β -caroteno e licopeno, e redução significativa nos valores de fibras alimentares e ácidos cítrico e málico. O fruto maduro apresenta um alto teor de carotenoides, destacando o potencial antioxidante da OPN.

Palavras-chave: *Pereskia aculeata* Mill; ora-pro-nobis; hortaliças não-convencionais; caracterização físico-química; atividade antioxidante; atividades biológicas.

ABSTRACT

The *Pereskia aculeata* Mill species, popularly known as “ora-pro-nobis” (OPN), belongs to a group known as unconventional or traditional vegetables, which currently has its cultivation and consumption decreased in all Brazil's regions due to globalization and the increasing use of processed foods. This study aimed to characterize the physical and chemical composition of leaves and fruits of OPN, as well as the antioxidant and biological activities of the leaves. Therefore, fresh leaves and fruits in three maturity stages (green, intermediate and ripe) were collected at two different sites at the city of Curitiba – PR. For the physicochemical characterization, values of humidity, pH, ashes, amount of soluble solids, titratable acidity, proteins, lipids, carbohydrates, fibers and energetic values were determined for the OPN leaves and fruits. Antioxidant analysis on the leaves involved assays of the reduction potential of the DPPH radical, assay of thiobarbituric acid (TBARS), formation of phosphomolybdic complex, total phenolic content, content of flavonoids, and carotenoids (β -carotene and lycopene), while on the fruit only the carotenoids were evaluated. Biological activities involved the hemolytic activity and the evaluation of preliminary toxicity *in vitro* front to *Artemia salina*. The study revealed significant quantities of proteins and dietary fibers on the leaves of the *P. aculeata* species. The species did not showed toxicity in both raw leaves extracts, with some fractions presenting moderate toxicity since the first 24h. Results point out that OPN leaves are a good source of protein, dietary fibers. Studies for the identification of phytochemicals responsible for this possible toxicity, in addition to a research on the safe amount for ingestion and better preparation for its consumption are necessary. Physicochemical characterization analysis revealed that ora-pro-nobis fruits during ripeness present a significant increase in values of pH, total soluble solids, glucose, fructose, sucrose, β -carotene and lycopene, and a significant reduction in the values of dietary fibers and citric and malic acids. Ripe fruit presents a high carotenoid amount, highlighting the OPN antioxidant potential.

Key-words: *Pereskia aculeata* Mill; ora-pro-nobis; unconventional vegetables; physicochemical characterization; antioxidant activity; biological activities.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	– CAULE, FOLHAS E ESPINHOS DA ESPÉCIE <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	14
FIGURA 2	– DESENVOLVIMENTO DAS FLORES DA ESPÉCIE <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	15
FIGURA 3	– FRUTOS DA ESPÉCIE <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	16
FIGURA 4	– PORCENTAGEM DE HEMÓLISE DOS EXTRATOS CETÔNICO E FRAÇÕES DE <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	59
FIGURA 5	– PORCENTAGEM DE HEMÓLISE DOS EXTRATOS ALCOÓLICOS E FRAÇÕES DE <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	59
FIGURA 6	– FRUTOS DA OPN NOS DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO.....	72
FIGURA 7	– TEORES DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E AÇÚCARES DOS FRUTOS DE OPN NOS TRÊS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO.....	79
FIGURA 8	– TEOR DE CAROTENOIDES NOS FRUTOS DA OPN NA MATURAÇÃO.....	80

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	–	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FOLHAS DA ESPÉCIE <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	30
TABELA 2	–	COMPOSIÇÃO DOS AMINOÁCIDOS, VALORES DE REFERÊNCIA DA FAO/WHO (2013), E PORCENTAGEM DE ADEQUAÇÃO DE AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS DA ESPÉCIE <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	33
TABELA 3	–	TEOR DE MINERAIS DAS FOLHAS DA ESPÉCIE <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	35
TABELA 4	–	COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E FLAVONOIDES TOTAIS DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	52
TABELA 5	–	ANÁLISE ANTIOXIDANTE UTILIZANDO OS MÉTODOS FOSFOMOLIBDÊNIO, DPPH E TBARS DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	56
TABELA 6	–	ENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE À <i>Artemia salina</i> DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES DAS FOLHAS DA <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	60
TABELA 7	–	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS FRUTOS DA ESPÉCIE <i>Pereskia aculeata</i> Mill EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO.....	75
TABELA 8	–	CORRELAÇÃO DE PEARSON (R) DAS ANÁLISES REALIZADAS DO FRUTO MADURO.....	76

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	11
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA E OCORRÊNCIA DO GÊNERO <i>Pereskia</i>	13
2.2	COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL.....	16
2.3	BIODIVERSIDADE E CULTURA ALIMENTAR	19
3.	ARTIGO 1	24
4.	ARTIGO 2	43
5.	ARTIGO 3	68
6.	CONCLUSÃO.....	87
	REFERÊNCIAS	88
	ANEXO 1 - EXSICATA.....	92
	ANEXO 2 – AUTORIZAÇÃO DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO	94

1. INTRODUÇÃO

As hortaliças não-convencionais, ou tradicionais, são um grupo de alimentos presentes em uma determinada região, que exercem influência na alimentação da população (BRASIL, 2010). Habitantes do estado de Minas Gerais relatam que o cultivo e o consumo de hortaliças não-convencionais têm diminuído, o que pode ser atribuído à globalização e ao crescente uso de alimentos industrializados (DIAS et al., 2005; ALMEIDA; CORRÊA, 2012). Essas mudanças significativas no padrão alimentar dos brasileiros gerou uma perda de características culturais e de identidade em relação ao consumo de alimentos locais e regionais (BRASIL, 2002).

Dentre estes vegetais, a espécie *Pereskia aculeata* Mill, popularmente conhecida como ora-pro-nóbis (OPN), lobrobó e carne de pobre (ROCHA et al., 2011; PINTO et al., 2012), desperta um grande interesse pelo seu valor nutricional e potencial industrial (TAKEITI et al., 2009). No Brasil, seu consumo é mais difundido no estado de Minas Gerais (OLIVEIRA et al., 2013; DIAS et al., 2005). A incidência do ora-pro-nobis ocorre da Bahia ao Rio Grande do Sul (TAKEITI et al., 2009), sendo no Paraná encontrada na Floresta Estacional Semidecidual, a qual pertence ao bioma da Floresta Atlântica (SOLLER et al., 2014).

A *Pereskia aculeata* Mill é uma planta originária dos trópicos, nativa da flora brasileira, com características de trepadeira, podendo atingir até 10 metros de altura. Apresenta caule fino, ramos longos, com poucos e pequenos espinhos. Em seus ramos, se inserem folhas largas e suculentas, podendo surgir no final de seus ramos flores terminais (DUARTE; HAYASHI, 2005; TOFANELLI; RESENDE, 2011). De suas flores provém os frutos que, quando maduros, são carnosos e adquirem cor amarelo-alaranjada, com presença de acúleo e pêlos (ROSA; SOUZA, 2003).

A ora-pro-nóbis, que em latim significa “rogai por nós”, pertence ao reino *Plantae*, classe *Magnoliopsida*, ordem *Caryophyllales*, família *Cactaceae* e gênero *Pereskia*. Deste grupo de 17 espécies, as folhas de *Pereskia aculeata* Mill se destacam pelo alto teor de proteínas, fibras alimentares, minerais, vitaminas e compostos bioativos (ALMEIDA et al., 2014; TAKEITI et al., 2009;

OLIVEIRA et al., 2013), enquanto seus frutos, são conhecidos pelo alto teor de carotenoides (AGOSTINI-COSTA et al., 2012; AGOSTINI-COSTA et al., 2014).

Além da preservação do hábito cultural, o interesse nas cactáceas do gênero *Pereskia* vem aumentando na indústria alimentícia e farmacêutica, sobretudo pelo alto teor de proteínas e mucilagens e à sua elevada atividade antioxidante (SOUSA et al., 2014; CONCEIÇÃO et al., 2014, MERCÊ et al., 2001). Com o propósito de promover o consumo a nível local, prejudicado pela falta de informação quanto ao seu valor nutricional e pelo modo de preparo por parte da população, são necessários estudos que avaliem a composição de suas folhas e frutos. Assim, o potencial exploratório da ora-pro-nobis e seus derivados pode justificar o estudo, por acreditar na possibilidade de inclusão de seu consumo e promover uma alternativa de renda aos produtores agrícolas familiares. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a composição físico-química e investigar as atividades antioxidante e biológica da OPN.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA E OCORRÊNCIA DO GÊNERO *Pereskia*

A família Cactaceae possui aproximadamente 230 gêneros e mais de 1.400 espécies, distribuídas nas Américas nos países do México, Estados Unidos, Chile e Brasil. No Brasil, ocorrem 37 gêneros e cerca de 230 espécies, distribuídas por todos os territórios, principalmente na região Leste (HUNT; TAYLOR; CHARLES, 2006; SOLLER et al., 2014). As principais representantes desta família são os cactos que são plantas perenes, suculentas, de crescimento lento e tolerantes à seca. Além de serem apreciadas como plantas ornamentais, os cactos destacam-se na paisagem de diversos ecossistemas brasileiros, especialmente na caatinga nordestina (PÉREZ-MOLPHE-BALCH et al., 2015). Algumas espécies são arborescentes, arbustivas ou rastejantes, com caules lenhosos ou suculentos, com espinhos distribuídos uniformemente em torno da haste (NOBEL¹, 1998 apud PÉREZ-MOLPHE-BALCH et al., 2015).

A família Cactaceae está dividida em quatro subfamílias, sendo elas Cactoideae, Maiuhenioideae, Opuntioideae e Pereskoideae, sendo esta última amplamente distribuída no Caribe e na América Central e do Sul (EDWARDS; NYFFELER; DONOGHUE, 2005). O gênero *Pereskia*, pertencente à subfamília Pereskoideae, apresenta habitats florestais mais secos e consistem em plantas com caules finos, sublenhosos ou lenhosos, onde se inserem folhas largas com presença de espinhos na sua base. No fim de seus caules surgem flores terminais únicas ou em cachos (DUARTE, HAYASHI, 2005).

O gênero *Pereskia* é considerado o menos evoluído, com cerca de 25 espécies, sendo algumas utilizadas na medicina tradicional e na culinária popular (TURRA et al., 2007). A espécie *Pereskia aculeata* Mill se destaca por apresentar atividade antioxidante e citotóxica, e presença de mucilagens, esteroides e compostos fenólicos (PINTO et al., 2012; ALMEIDA et al. 2014; AGOSTINI-COSTA et al., 2014; CONCEIÇÃO et al., 2014). Suas folhas (FIGURA 1) são simples e simétricas, com cerca de 7 cm de comprimento e 3 cm de largura, onde somente a nervura central é nítida. Nos galhos, de duas a

¹ Nobel, P.S. 1988. Environmental Biology of Agaves and Cacti. Cambridge University Press, New York, NY, USA.

seis folhas se agrupam em ramos laterais alternos, e apresentam espinho axilar (DUARTE, HAYASHI, 2005).

FIGURA 1 – CAULE, FOLHAS E ESPINHOS DA ESPÉCIE *Pereskia aculeata* Mill.



FONTE: A autora (2014).

As flores de OPN (FIGURA 2) são períginas e ocorrem no hipanto, inicialmente apresentam cor verde e consistência carnosa, e possuem bractéolas foliares verdes de onde provêm aréolas com acúleos e pêlos longos (ROSA; SOUSA, 2003).

FIGURA 2 – DESENVOLVIMENTO DAS FLORES DA ESPÉCIE *Pereskia aculeata* Mill.



FONTE: A autora (2015).

No desenvolvimento dos frutos (FIGURA 3), inicialmente o hipanto se mantém verde, apresenta bractéolas também verdes, e aréolas, onde ocorrem acúleos e pêlos. Os acúleos se desenvolvem nas axilas das bractéolas, fenômeno que ocorre em muitos frutos da família Cactaceae (ROTH², 1977 apud ROSA; SOUSA, 2003). Quando maduros, o hipanto adquire coloração

² ROTH, I. Fruits of angiosperms. In: LINSBAUER, K. Encyclopedia of plant anatomy. Berlin: Gebruder Borntraeger, 1977. v. 10, n. 1, p. 106-118.

amarelo alaranjada, e pode perder completamente as bractéolas e os acúleos. O fruto é carnoso, globoso, pomáceo e tipo cactídio (ROSA; SOUSA, 2003).

FIGURA 3 – FRUTOS DA ESPÉCIE *Pereskia aculeata* Mill.



FONTE: A autora (2015)

2.2 COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL

Estudos relacionados à espécie *Pereskia aculeata* Mill são, em sua maioria, descritivos de sua composição físico-química, ou ligados à incidência do seu consumo em determinadas regiões. A *Pereskia aculeata* Mill é originária de regiões tropicais e subtropicais, e, apesar de ser declarado como erva daninha em alguns países, como África do Sul, suas folhas são consumidas por muitas pessoas na alimentação, já que se destaca pelo alto nível de proteínas, fibras alimentares, minerais, vitaminas e compostos bioativos (DIAS

et al., 2005; TAKEITI et al., 2009; PATERSON et al., 2011; ALMEIRA, CORRÊA 2012; OLIVEIRA et al., 2013; ALMEIDA et al., 2014).

O alto conteúdo proteico e de mucilagens, e a ausência de toxicidade das folhas, a tornam uma boa opção na alimentação humana em preparações como farinhas, refogados, saladas, sopas e tortas (TAKEITI et al., 2009; ALMEIDA et al., 2014). Em estudo experimental, a massa alimentícia seca foi fortificada com 2% da farinha de ora-pro-nobis desidratada em sua composição. O produto apresentou boa aceitabilidade e maiores teores de proteínas, fibras alimentares e cinzas em relação à massa de macarrão convencional (ROCHA et al., 2008).

No estudo de Almeida et al. (2014), realizado em Minas Gerais, os autores encontraram teor de 28,99g/100g de proteínas totais na farinha das folhas de *Pereskia aculeata*, teor superior aos já publicados em outros estudos, sugerindo seu consumo para grupos populacionais que apresentam acesso limitado às proteínas animais, contribuindo para prevenção ou tratamento de carências nutricionais relacionadas às proteínas. A partir da avaliação da digestibilidade proteica *in vitro*, pôde-se relacionar que o tratamento térmico suave aplicado em proteínas pode aumentar sua digestibilidade, devido à desnaturação parcial das cadeias de peptídeos, que se tornam mais suscetíveis à ataques enzimáticos (TAKEITI et al., 2009)

O conteúdo de fibras alimentares do tipo mucilagens nas folhas de *Pereskia aculeata* tem sido relatado (MERCÊ, et al., 2001; ROSA, SOUZA, 2003; DUARTE, HAYASHI, 2005). Na composição nutricional das folhas de ora-pro-nobis, foram encontrados altos índices de fibras solúveis (5,2g/100g de matéria seca), sugerindo que também deve ser avaliada a ação fisiológica das mesmas (TAKEITI et al., 2009).

Popularmente, seu consumo está associado principalmente ao tratamento de anemia, câncer, cicatrização, osteoporose e à constipação intestinal (SARTOR et al., 2010; ALMEIDA; CORRÊA, 2012). No estudo de Almeida e Corrêa (2012) no estado de Minas Gerais, 66,67% dos participantes citaram o consumo de ora-pro-nobis como tratamento para a anemia ferropriva, por considerá-la “forte” devido ao elevado teor de ferro da planta. Nos estudos de Takeiti et al. (2009) e de Almeida et al. (2014), foram encontrados elevados níveis de ferro, 14,2 e 20,56mg/100g respectivamente, os quais foram

classificados como superiores aos níveis do espinafre e outros vegetais folhosos.

Também é significativo seu teor de cálcio. Em estudos de caracterização físico-química foram encontradas quantidades deste mineral de 3420 mg/100g em folha fresca (TAKEITI et al., 2009) e 1346,67 mg/100g em folha seca (ALMEIDA et al., 2014). Quando comparada a quantidade de cálcio das folhas de ora-pro-nobis com a quantidade em leite e derivados, seu teor é superior àquele presente em leite integral em pó (579 mg/100g), iogurte natural (143 mg/100g) e vários tipos de queijos (minas frescal 579 mg/100g, ricota 253 mg/100g, parmesão 992 mg/100g) (TACO, 2011). Por se tratar de uma fonte vegetal de cálcio, seu consumo pode melhorar a qualidade nutricional de indivíduos que não consomem leite e derivados, que são considerados sua principal fonte.

Almeida et al. (2014), ao analisarem os compostos bioativos e/ou antinutrientes encontrados no ora-pro-nobis, como ácido oxálico, nitratos, saponinas, compostos fenólicos e inibidores de tripsina, concluíram que, mesmo que esses compostos sejam detectados, o seu consumo diário em quantidades normais não é suficiente para promover algum tipo de dano à saúde, o que reforça a atoxicidade das suas folhas. As maneiras de preparo e consumo, no entanto, devem ser aprofundadas para garantir melhor absorção, principalmente de proteínas e minerais.

Recentes estudos científicos realizaram a atividade citotóxica e identificaram teores de fenóis totais e flavonoides (PINTO et al., 2012; SOUSA et al., 2014). Pinto et al. (2012) encontraram elevados níveis de flavonoides e compostos fenólicos em suas análises, bem como atividade citotóxica frente a células tumorais (leucemia promielocítica humana e adenocarcinoma mamário humano), as quais inibiram entre 25% e 30% a proliferação celular sem ação contra células saudáveis, enquanto a droga de referência (fosfato de etoposido) inibiu 40%, sugerindo uma ação seletiva contra as células tumorais.

Os frutos da ora-pro-nobis, denominados comumente de groselha-da-América, groselha-das-antilhas e groselha-de-barbados, têm safra entre os meses de junho e julho (AGOSTINI-COSTA, et al., 2012). São consumidos *in natura*, ou processados na forma de geleias e em sucos, porém, devido à presença de acúleos (espinhos) em sua superfície, seu manuseio e

processamento é pouco conhecido. São estudados principalmente quanto ao seu perfil de carotenoides e polifenóis totais (AGOSTINI-COSTA, et al., 2012; AGOSTINI-COSTA, et al., 2014).

Agostini-Costa et al. (2014) encontraram níveis classificados como muito elevados de β -caroteno e α -caroteno em sua análise, conforme a classificação de Britton e Khachik (2009), sendo encontrado melhores índices nos frutos maiores e mais alaranjados. O clima tropical do Brasil é favorável à ocorrência de uma grande variedade de frutos carotenogênicos. Os carotenóides são os pigmentos mais abundantes da natureza, e estão entre os fitoquímicos que se acredita serem responsáveis por reduzir o risco de desenvolver algumas doenças degenerativas, como câncer, degeneração macular, e por fortalecer o sistema imunológico (AGOSTINI-COSTA et al., 2012; AGOSTINI-COSTA et al., 2014).

A divulgação das propriedades do ora-pro-nobis pode trazer a possibilidade da introdução conjunta de vários produtos não-convencionais para a alimentação e saúde humana. O resgate e a valorização dessas culturas tradicionais são muito importantes do ponto de vista cultural, econômico, social e nutricional, uma vez que, normalmente, não estão organizadas enquanto cadeia produtiva (BRASIL, 2010).

O resgate, tanto do ponto de vista alimentar como cultural, é fundamental para que se evite o processo de extinção, não apenas da planta, mas de toda a tradição, cultura e herança de seu cultivo e consumo. Estimular os agricultores a resgatar o cultivo e incentivar o consumo de variedades locais por meio do conhecimento científico adquirido é fundamental para a riqueza e diversidade da dieta da população, visando perpetuar bons hábitos alimentares e valorizar o patrimônio cultural. Segundo Souza et al. (2009), além do potencial de enriquecimento da dieta, a diversificação da produção agrícola, principalmente na agricultura familiar de baixa renda por apresentar características de fácil cultivo, traz melhoria da renda das comunidades.

2.3 BIODIVERSIDADE E CULTURA ALIMENTAR

A diversidade biológica é uma das propriedades fundamentais da natureza, responsável pelo equilíbrio e estabilidade dos ecossistemas.

Representa um imenso potencial de uso econômico, em especial pela biotecnologia, que depende da disponibilidade de matéria prima, tecnologia e mercado, e é capaz de gerar riquezas por meio do adequado emprego de componentes da biodiversidade (MMA, 2013). Além dos investimentos financeiros, a conscientização da população sobre ecossistemas e biodiversidade é fundamental para enfrentar os desafios de sustentabilidade. A valorização dos alimentos regionais e do auto-consumo contribuem para a conservação da biodiversidade e o resgate de cultivos alimentares locais. O desconhecimento sobre a utilidade e forma de uso das plantas associados às tendências “modernas” resultou no uso reduzido de muitas plantas que faziam parte do cotidiano alimentar dos moradores de zonas rurais e periferias urbanas (SOUZA et al., 2009). Dentro dessa perspectiva, algumas experiências de valorização de culturas e hábitos alimentares vem estimulando a valorização e a intensificação do plantio e uso de alimentos tradicionalmente utilizados regionalmente, assim como de plantas medicinais (ANA, 2010).

O Brasil abriga a maior biodiversidade do mundo, com cerca de 20% de toda a biodiversidade do planeta, a maior floresta tropical (Amazônica) e dois dos dezenove *hotspots* mundiais – a Mata Atlântica e o Cerrado (GANEM, 2010). A imensa diversidade de espécies frutíferas e hortaliças nativas (além das cultivadas ou naturalizadas) do Brasil e, especialmente, na Amazônia é imensa. A megabiodiversidade brasileira, muito exaltada na mídia, agendas públicas e instituições de pesquisa, pouco é valorizada e usada. Muitas espécies são de grande importância ecológica e econômica, e apresentam potencial de uso se investirem em programas de estudo, seleção e manejo adequados. Espécies alimentares nativas, frutíferas e oleráceas, são pouco utilizadas em proporção a quantidade de espécies em países tropicais (KINUPP, 2009).

A perda da diversidade biológica, principalmente nas regiões tropicais, tem raízes na condição humana contemporânea e é agravada pelo crescimento explosivo da população humana e pela distribuição desigual de riquezas. A intervenção humana em *habitats* que eram estáveis aumentou significativamente nos últimos anos, gerando perdas maiores na biodiversidade. Outros processos responsáveis pela perda são: perda e fragmentação dos habitats; exploração excessiva de plantas e animais; uso de

híbridos e monoculturas na agroindústria e nos programas de reflorestamento; contaminação da água, solo e atmosfera por poluentes; e as mudanças climáticas (MMA, 2013).

A Mata Atlântica é o bioma mais afetado pela perda e fragmentação de *habitat*, sendo também uma das áreas de maior prioridade para conservação do planeta (GANEM, 2010; BLANES, 2004). No percurso histórico de desenvolvimento do nosso país, a Mata Atlântica, região de fartas condições para a sobrevivência, como o fornecimento de uma região própria para habitação, alimentação, cultivos agropecuários, foi explorada e ao mesmo tempo devastada (CNRBMA, 2003). A maior parte das atividades econômicas nacionais se baseia em espécies exóticas.

A conciliação entre a sustentabilidade na produção de alimentos e sustentabilidade ambiental é característica do contexto agroecológico (STEENBOCK et al., 2013). O desenvolvimento de sistemas agroalimentares provém de sua trajetória histórica de produção e cultivo, baseado em culturas locais, de povos tradicionais, e, além de uma forma técnica de produção, a todo um contexto humano integrado à natureza, ou seja, possui uma base social, econômica, ecológica e cultural.

A progressiva substituição da escassez pelo consumo excessivo de alimentos gerou a transição alimentar registrada no Brasil (SARTI, CLARO, BANDONI, 2011). Com a diversificação do consumo, gerou-se uma necessidade de produtos semi-prontos e processados, que substituíram de maneira crescente o consumo de alimentos *in natura*. A necessidade de adaptar a vida segundo as novas condições, como tempo, recursos financeiros, locais disponíveis para se alimentar, local e periodicidade das compras, são decorrência do modo de vida urbano (GARCIA, 2003). Consequentemente a ela, a modificação no padrão dietético gera mudanças no estado nutricional e perfil de saúde de uma população, denominado transição nutricional. A substituição da refeição familiar, antes mais completa e balanceada, vem confundindo o comportamento alimentar da nova geração (MONTEIRO, MONDINI, COSTA, 2000).

As práticas alimentares contemporâneas são influenciadas pelos avanços tecnológicos na indústria de alimentos e na agricultura, e pela globalização (GARCIA, 2003). Dados da Pesquisa de Orçamento Familiar

(POF) de 2008-2009 (IBGE, 2010), demonstram que houve redução nas quantidades adquiridas para consumo familiar *per capita* com feijão (-26,4%) e arroz polido (-40,5%), enquanto apresentou o maior aumento o refrigerante de cola (+39,3%), quando comparados com os dados da POF de 2002-2003 (IBGE, 2004). Concomitante a isso, os alimentos preparados ou semi-prontos aumentaram seu peso no orçamento familiar

A implementação de uma cultura alimentar globalizada, fundamentada em ordem estrutural (econômica, social, política e cultural), transcendem os grupos, as classes sociais e as nações (ORTIZ, 1994). A desvalorização de alimentos regionais e nacionais e o desenraizamento da alimentação incluem o Brasil em uma sociedade universal, com facilidade de absorver novas culturas e perder sua origem (COUTO, 2000; BRASIL, 2002). A comida tradicional, porém, persiste, e vem se metamorfoseando para adaptar-se às novas exigências, recriando e atualizando elementos do passado que se misturam com o presente, e conta com facilidades da tecnologia e da modernidade, seja no modo de preparo ou nos produtos utilizados (GARCIA, 2003).

As hortaliças nativas, muitas vezes tratadas como “mato”, apresentam alguma expressão regional, porém aquém do desejado. A pesquisa, cultivo, uso e valorização é ainda menor se comparado às frutas nativas, que têm o atrativo das cores, doçura e suculência (KINUPP, 2009). O cultivo dessas hortaliças é feito na sua grande parte por populações tradicionais (agricultores familiares) que preservam o conhecimento acerca de seu cultivo e consumo, passando-o de geração a geração. Normalmente, não estão organizadas enquanto cadeia produtiva propriamente dita, não despertando o interesse por parte de empresas de sementes, fertilizantes ou agroquímicos. São plantas rústicas, por vezes esquecidas, com potencial para o enriquecimento da dieta e melhoria de renda das comunidades (DIAS et al., 2005; SOUZA et al., 2009).

Schmitt (2011) explora, em sua teoria, a aproximação entre a produção de alimentos e o consumo, e argumenta que, para reestabelecer estes laços considerando a questão socioambiental, e recaracterizando o espaço e modo de cultivo, é necessário compreender o contexto atual de atividade agrícola predatória do meio ambiente, e estruturar mercados locais que viabilizem produção e consumo com objetivos de renovação dos processos ecológicos e construção social, também com instrumentos de políticas públicas. A

conservação da biodiversidade significa a busca em atingir as Metas de Desenvolvimento do Milênio: Segurança Alimentar, erradicação da pobreza e saúde à população. O prejuízo à biodiversidade significa perda dos serviços fornecidos, sendo a população menos favorecida a primeira a sentir as consequências, e não menos afetado também será o restante da população (SECRETARIADO, 2010).

Diversas espécies ainda sub-exploradas da flora brasileira, podem constituir uma fonte de renda alternativa e uma opção de diversificação cultural, na atividade agropecuária, sobretudo na agricultura familiar. A maioria das plantas não-convencionais é desconhecida, e um reduzido número delas apresenta comprovação científica de suas propriedades. Para maior valorização das plantas tradicionais de uso popular são necessários conhecimentos técnicos sobre seu cultivo e uso em grande escala (SOUZA et al., 2009). A produção e o consumo pressupõem modificações na relação homem *versus* alimento, que passa a incluir o alimento mais saudável na dieta e a prepará-lo de forma mais adequada à preservação do valor nutricional.

No contexto da economia familiar, Dias et al. (2005) destacaram a importância das hortaliças não-convencionais, como taioba, ora-pro-nobis, serralha e mostarda, consumidas pelas populações rurais e urbanas, e que contribuem para complementar a alimentação e a economia familiar. Devido às características deste grupo de plantas, representam uma alternativa para enriquecimento e incremento da qualidade da alimentação, já que possuem importantes qualidades nutricionais, além de condições favoráveis ao cultivo, por serem plantas rústicas e de fácil propagação (TOFANELLI, RESENDE, 2011).

Mas, de maneira geral, as hortaliças dessa categoria não são produzidas comercialmente. Numa perspectiva futura, poderiam ser incluídas na diversificação da produção, principalmente para os grupos de baixa renda, por apresentarem, em princípio, baixa exigência em insumos agroindustriais (SOUZA et al., 2009). A inclusão de um novo produto no mercado gera uma nova cadeia de produção e consumo, bem como giro de capital, explorando economicamente a espécie dentro do conceito sustentável, garantindo o direito humano à alimentação adequada (DHAA) e à segurança alimentar e nutricional (SAN).

3. ARTIGO 1 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, PERFIL DE AMINOÁCIDOS E TEOR DE MINERAIS DAS FOLHAS DA ESPÉCIE *Pereskia aculeata* Mill.

“Physicochemical characterization, amino acids profile and mineral content of *Pereskia aculeata* Mill species leaves.”

Bruna Isadora Trennepohl ^a, Cristiane Fagundes ^a, Francis José Zortéa Merino ^b, Vania Maria Barbosa ^a, Marlene Bampi ^a, Sila Mary Rodrigues Ferreira ^c, Obdúlio Gomes Miguel ^{d, 3}

^{3 a} Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-graduação em Alimentação e Nutrição. Campus III. Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico. 80.210-170. Curitiba, Paraná, Brasil.

^b Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Campus III. Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim botânico. 80.210-170. Curitiba, Paraná, Brasil.

^c Universidade Federal do Paraná.. Departamento de Nutrição. Programa de Pós-graduação em Alimentação e Nutrição. Campus III. Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico. 80.210-170. Curitiba, Paraná, Brasil.

^d Universidade Federal do Paraná - UFPR. Departamento de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição. Campus III. Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico. 80.210-170.

Resumo

A espécie *Pereskia aculeata* Mill, popularmente conhecida como ora-pro-nóbis (OPN), pertence a um grupo de hortaliças conhecidas como não-convencionais. O conhecimento da composição físico-química das suas folhas, como o perfil de aminoácidos e o teor de minerais, ainda é pouco estudada. O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização físico-química das folhas da planta, além de avaliar o seu perfil de aminoácidos e teores de minerais. A amostra foi coletada em Curitiba, higienizada e selecionada quanto aos parâmetros de cor e integridade física. Foram determinados os valores de umidade, pH, cinzas, teor de sólidos solúveis, acidez titulável, proteínas, lipídeos, carboidratos, fibras alimentares e valor energético, além de identificados o perfil de aminoácidos e o teor de minerais (cálcio, magnésio, manganês, sódio, potássio, cobre, ferro e zinco). O estudo revelou quantidades significativas de proteínas e fibras alimentares. O teor de nitrato encontrado não é suficiente para causar danos tóxicos à saúde humana. Entre os aminoácidos, o ácido glutâmico (1,08 g/100g de folha seca) e a leucina (0,98 g/100g de folha seca) foram os mais abundantes, sendo que o triptofano foi o que apresentou maior adequação (464,45%) em relação aos valores de referência da FAO/WHO (2013) para adultos. O cálcio foi o mineral mais abundante com média de 5.150 mg/100g, seguido pelos teores de magnésio (média de 2.440 mg/100g) e de potássio (média de 1.440 mg/100g), tendo o ferro também apresentado valores relevantes (15,9 mg/100g). Os resultados indicam que as folhas de OPN são boa fonte de proteínas, fibras alimentares.

Palavras-chave: *Pereskia aculeata* Mill; ora-pro-nobis; caracterização físico-química; proteína; fibra alimentar; aminoácidos; minerais.

1. Introdução

A espécie *Pereskia aculeata* Mill, popularmente conhecida como ora-pro-nobis (OPN), pertence a um grupo de hortaliças conhecidas como não-convencionais, ou tradicionais, que atualmente tem seu cultivo e consumo reduzido em todas as regiões do país, devido à globalização e ao crescente uso de alimentos industrializados (Dias et al., 2005; Almeida; Corrêa, 2012). Essas mudanças significativas no padrão alimentar dos brasileiros gerou uma perda de características culturais e de identidade em relação ao consumo de alimentos locais e regionais (Brasil, 2002).

A OPN, que em latim significa “rogai por nós”, pertence família *Cactaceae* e gênero *Pereskia*. Dentro deste gênero, as folhas de *Pereskia aculeata* Mill, apesar de declarada como erva daninha em alguns países, como África do Sul, são consumidas por muitas pessoas na alimentação, devido ao elevado nível de proteínas, fibras alimentares, minerais, vitaminas e compostos bioativos (Dias et al., 2005; Takeiti et al., 2009; Paterson et al., 2011; Almeida; Corrêa, 2012; Oliveira et al., 2013; Almeida et al., 2014).

A OPN é originária de regiões tropicais e subtropicais, nativa da flora brasileira e com características de trepadeira. Apresenta caule fino, alcançando até 10 metros de altura, com ramos longos e pequenos espinhos, nos quais se inserem folhas largas e suculentas. No final de seus ramos surgem flores, das quais provém frutos que, quando maduros, são carnosos e adquirem cor amarelo-alaranjada, com presença de acúleo e pêlos (Souza; Rosa, 2003; Duarte; Hayashi, 2005; Tofanelli; Resende, 2011). No Brasil, seu consumo é mais difundido no estado de Minas Gerais (Dias et al., 2005; Oliveira et al., 2013). A incidência do OPN ocorre da Bahia ao Rio Grande do Sul (Takeiti et al., 2009), sendo no Paraná encontrada na Floresta Estacional Semidecidual, a qual pertencente ao bioma da Floresta Atlântica (Soller et al., 2014).

Além da preservação do hábito cultural, o interesse nas cactáceas do gênero *Pereskia* vem aumentando na indústria alimentícia e farmacêutica, sobretudo pelo elevado teor de proteínas e mucilagens e à sua atividade antioxidante (Mercê et al., 2001; Conceição et al., 2014; Sousa et al., 2014). O conteúdo proteico das folhas foi relatado como elevado quando comparado

com outros vegetais, como espinafre, agrião e feijão (Takeiti et al., 2009; Almeida et al., 2014). O conteúdo de fibras alimentares do tipo mucilagens nas folhas de OPN foi analisado por Lima Junior et al. (2013), e Conceição et al. (2014). Ambos os autores concluíram que a espécie é uma fonte alternativa de hidrocoloides que podem ser utilizados pela indústria alimentícia, além de ser uma planta de fácil cultivo, adaptável à diversos solos e com baixo custo de produção.

Diversas espécies ainda sub-exploradas da flora brasileira podem constituir uma fonte de renda alternativa e uma opção de diversificação cultural, na atividade agropecuária, sobretudo na agricultura familiar. A maioria das plantas não-convencionais são desconhecidas, e um reduzido número delas apresenta comprovação científica de suas propriedades. O resgate, tanto do ponto de vista alimentar como cultural, é fundamental para que se evite o processo de extinção, não apenas da planta, mas de toda a tradição, cultura e herança de seu cultivo e consumo. Assim, o objetivo desse trabalho foi realizar a caracterização físico-química das folhas da OPN, e avaliar seu perfil de aminoácidos e teor de minerais.

2. Metodologia

2.1 Coleta e preparo das amostras

As folhas de *ora-pro-nobis* utilizadas na pesquisa foram coletadas em dois locais, em pontos distintos na cidade de Curitiba, com as seguintes coordenadas geográficas: local 01 - 25°22'59.4"S 49°07'37.6"W; local 02 - 25°25'49,3"S 49°15'27,5"W. A identificação da espécie vegetal foi realizada no Museu Botânico Municipal (MBM) de Curitiba–PR, onde está depositada a exsicata MBM 341967 (ANEXO 1). A pesquisa foi autorizada por meio do processo 010004/2015-7, pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), o qual é credenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/MMA), a acessar e remeter componente do Patrimônio Genético (ANEXO 2). Essas foram higienizadas em água corrente e secas em temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C). Para a caracterização físico-química, as análises de umidade, cinzas, pH, sólidos solúveis e acidez titulável ocorreram com a folha *in natura*. As demais

análises (lipídios, proteína total e fibra alimentar total) foram realizadas com as folhas liofilizadas, em liofilizador Liobras L101 a -45°C com as folhas previamente congeladas. Após a liofilização, as amostras foram moídas em moedor elétrico até obtenção de um pó fino (folha seca), e armazenadas em freezer (-5 °C) até a realização das análises.

2.2 Caracterização físico-química

A umidade foi determinada por secagem direta em estufa a 105°C até peso constante, de acordo com a metodologia nº 925.09 (AOAC, 2000). As cinzas seguiram a metodologia nº 920.153 (AOAC, 2000). O pH foi aferido em pHmetro MS Tecnopon, Brasil, conforme metodologia nº 942.15 (AOAC, 2000). O teor de sólidos solúveis totais (SST) foi determinado a partir dos sucos das amostras diluídas em 100mL de água destilada e filtradas em refratômetro digital (RTD 95 – Instrutherm, Brasil). Os resultados foram expressos em °Brix. A acidez titulável foi verificada de acordo com a metodologia nº 942.15 (AOAC, 2000). A determinação dos lipídios foi realizada pela extração com éter de petróleo pelo método Soxhlet, de acordo com a metodologia nº 920.39.C (AOAC, 2000). A proteína total foi determinada pela digestão de Kjeldahl, com fator de conversão de N=6,25, seguindo metodologia nº 991.20 (AOAC, 2000), e a fibra alimentar total (TDF) conforme método nº 985.29 da AOAC (2000), utilizando reagentes SIGMA TDF-100A Kit – Total Dietary Fiber Assay Kit. Os carboidratos foram determinados pela diferença, em folha seca, entre cem e o teor de proteínas, lipídeos, cinzas, fibras alimentares totais e umidade. O valor energético total (VET) foi estimado segundo (Osborne & Voogt, 1978). O teor de nitrato foi realizado através de absorção atômica. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.3 Perfil de aminoácidos

A composição dos aminoácidos em amostras de OPN liofilizadas foi determinada de acordo com White et al, (1986). As proteínas da amostra foram hidrolisadas com ácido clorídrico (HCl) 6N por 24 h à 110 °C, seguido da adição do padrão interno ácido α -aminobutírico AAAB, para a quantificação por calibração interna. Os aminoácidos liberados na hidrólise ácida foram reagidos com fenilisotiocianato (PITC), para a derivatização, formando-se o PTC-

aminoácido. A separação dos derivados feniltiocarbamil-aminoácidos (PTC-aa) foi realizada por HPLC (SPC1000) em fase reversa (loop de injeção de 30 µL, pH 6,40, em gradiente linear binário com fluxo de 1 mL/min e temperatura da coluna 58°C), utilizando coluna LUNA® C18 (100 Å, 5 µm 250x4,6 mm – CA, EUA). A detecção foi feita por UV em 254 nm e a quantificação por calibração interna, utilizando o ácido α-aminobutírico (AAB) como padrão interno. O teor de triptofano foi determinado pelo método enzimático através de hidrólise alcalina, de acordo com a metodologia de Bernardo & Sotelo (1980). Os níveis de aminoácidos essenciais (AAE) foram calculados em relação aos padrões de pontuação para adultos (FAO/WHO, 2013) de acordo com a equação:

$$AAE = 100 \times [g \text{ AAE em } 100 \text{ g de proteína da amostra}] / [g \text{ AAE em } 100 \text{ g do padrão de referência FAO/WHO (2013)}]$$

2.4 Teor de minerais

Os teores de minerais foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, de acordo com a metodologia AOAC (2000) e quantificados usando padrões de referência. Os minerais cálcio, magnésio, manganês, sódio, potássio, cobre, ferro e zinco foram analisados após diluição em solução de ácido cítrico. Para as determinações de Ca, Mg e Na, foram adicionados 10 mL de trióxido de lantânio (5 g/100 mL) nas soluções finais dos padrões e amostras. As determinações foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em mg/100g de folha seca.

2.5 Análise estatística

Os resultados foram expressos em média ± desvio padrão (DP), realizados pelo software Sisvar 5.4 (Build 80).

3 Resultados e discussão

3.1 Caracterização físico-química

Os resultados da composição química e o valor energético obtidos no estudo da *P. aculeata* são apresentados na Tabela 1. O teor de umidade (87,25%) é semelhante ao identificado por Almeida et al. (2014) ao estudar a

mesma planta no estado de Minas Gerais/Brasil (87,54%), principal região em as folhas de OPN são consumidas. A quantidade de umidade presente em folhas verdes geralmente é alta, o que pode dificultar a preservação e estabilidade microbiológica, porém fornece propriedades positivas como palatabilidade e textura. O conteúdo de cinzas encontrado (2,05%) foi semelhante ao encontrado por Garcia-Herrera et al. (2014) ao pesquisar vegetais silvestres consumidos na região Mediterrânea, sendo a *Sonchus oleraceus* L. e *Taraxacum obovatum* as folhas com valores mais próximos (2,04 e 2,13% respectivamente).

Tabela 1

Composição química das folhas liofilizadas e *in natura* da espécie *Pereskia aculeata* Mill.

Análise	Resultados ¹
Umidade (%)	87,25 ±0,2
Cinzas (%)	2,05 ±0,8
pH	4,89 ±0,005
Sólidos solúveis (°Brix)	0,6 ±0,1
Acidez titulável (%)	0,26 ±0,07
Lipídios (g/100g)	2,4 ±0,4 (0,3) ²
Proteína total (g/100g)	18,66 ±0,4 (3,4) ²
Fibra alimentar total (g/100g)	52,35 ±0,2 (7,17) ²
Carboidratos (g/100g)	11,77 (1,38) ²
VET (Kcal)	143,32 (17,68) ²
Nitrato (mg/100g)	69,3

¹ Os resultados representam a média de três determinações e o desvio padrão. ² Os valores entre parênteses estão relacionados à folhas frescas.

O valor do pH das folhas frescas da OPN foi de 4,89, classificado como ácido. O teor de sólidos solúveis e a acidez titulável foi de 0,6 °Brix e 0,26%, respectivamente. A acidez titulável está relacionada com a concentração de ácidos orgânicos livres presentes nos alimentos, sendo comumente utilizada como parâmetro de qualidade.

Os teores de lipídios e proteínas totais foram inferiores aos encontrados por Almeida et al. (2014) em amostras secas de *P. aculeata* e *P. grandifolia*, os quais encontraram teores de 5,07 e 6,72 g/100g para lipídios e 28,99 e 32,02 g/100g para proteínas, respectivamente. O valor de lipídios também é inferior ao encontrado nas folhas de *Ilex paraguariensis*, 4,9 g/100g de folha seca,

planta largamente utilizada na região sul do Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai (Souza et al., 2015).

O valor de proteínas, de 3,4 g/100g da folha fresca e 18,66 g/100g de folha seca, é semelhante ou superior que outras folhas como serralha (*Sonchus oleraceus* L. – 2,19 g/100g de folha fresca) (Garcia-Herrera et al., 2014), folhas de rabanete (*Raphanus sativus* L. – 3,81 g/100g de folhas frescas) (Goyeneche et al., 2015), e *Alternanthera sessilis* verde (2,69 g/100g de folha fresca) (Othman et al., 2016). As folhas de OPN já foram consideradas fontes de proteínas em estudos anteriores (Takeiti et al., 2009; Almeida et al., 2014), sendo até conhecida como “carne dos pobres” em algumas regiões menos favorecidas do país. A partir da avaliação da digestibilidade proteica *in vitro*, pôde-se relacionar que o tratamento térmico suave aplicado em proteínas pode aumentar sua digestibilidade, devido à desnaturação parcial das cadeias de peptídeos, que se tornam mais suscetíveis à ataques enzimáticos (Takeiti et al., 2009)

A quantidade de fibra alimentar total (FAT) encontrada nas folhas de OPN é relevante. O valor encontrado (52,35 g/100g de folha seca e 7,17 g/100g de folha fresca) é superior ao relatado por Almeida et al. (2014), de 29,53 g/100g de folha seca para a mesma planta, e nas folhas de chicória e serralha, 6,05 e 4,38g/100g de folhas frescas respectivamente (Garcia-Herrera et al., 2014). De acordo com a OMS (2003), o consumo de grãos integrais, frutas e vegetais devem fornecer 25 g/dia de fibras alimentares totais. Assim, com aproximadamente 47 g da folha seca de ora-pró-nobis, é possível atingir a recomendação.

O valor de carboidratos encontrado nas folhas de OPN (11,71 g/100g de folha seca e 1,38 g/100g de folha fresca), foi inferior ao encontrado por Almeida et al. (2014) para as folhas da mesma espécie (29,53g/100g de folha seca). Tal diferença, segundo o autor, pode ser justificada pelas diferenças do solo de cultivo das plantas e pela estação do ano em que ocorreu a coleta das folhas. O valor energético (143,49 Kcal/100g de folha seca) foi inferior ao encontrado por Souza et al. (2015) nas folhas de *Ilex paraguariensis*, 398kcal/100g de folha seca. O valor energético representa a energia fornecida por proteína, carboidratos e lipídeos. Com exceção das proteínas, os valores de carboidratos e lipídios são baixos, o que influencia no reduzido valor energético das folhas.

Comparando os resultados obtidos com os valores nutricionais do repolho, hortaliça folhosa convencional mais adquirida nos domicílios paranaenses de acordo com a Pesquisa de Orçamento Familiar - POF 2008-2009 (IBGE, 2010), verifica-se que a OPN se destaca pelas quantidades de cinzas (0,4% no repolho e 2,05% na OPN), proteínas (0,9g/100g no repolho cru e 3,4g/100g nas folhas de OPN cruas) e fibras (1,9 g/100g no repolho cru e 7,17g/100g nas folhas de OPN frescas) (UNICAMP, 2011).

As amostras de OPN apresentaram teor de nitrato de 69,3 mg/100g, valor superior ao encontrado por Almeida et al. (2014) de 16,20 mg/100g. A diferença entre os valores podem ser explicadas, por serem coletadas em regiões diferentes, além de fatores biológicos e ambientais, como tipo de cultivo, composição do solo, exposição solar, temperatura do ar, uso de fertilizantes nitrogenados e tempo de colheita (Correia et al., 2010; Bahadoran et al., 2016).

Algumas evidências sugerem que o nitrato proveniente de alimentos pode ter efeito cardioprotetor em dietas ricas em vegetais, sendo o óxido nítrico responsável por esses efeitos (Lundberg et al., 2009). O aumento à exposição de compostos contendo nitratos em função do uso de fertilizantes e aditivos alimentares está sendo associado à incidência de meta-hemoglobinemia, distúrbios da tireóide e carcinogênese, devido à sua capacidade de conversão endógena para nitritos e nitrosaminas e à sua toxicidade (Correia et al., 2010; Bahadoran et al., 2015; Bahadoran et al., 2016). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2003), é aceitável a ingestão de até 3,7 mg de nitratos por quilo de peso por dia; sendo assim, um adulto com média de 70 kg poderia consumir até 259 mg de nitrato. Assim, seriam necessários 370 g de folhas secas para chegar à este valor.

3.2 Perfil de aminoácidos

O perfil de aminoácidos determinado nas folhas da OPN está apresentado na Tabela 2, e ao lado são apresentados os valores de referência da FAO/WHO (2013) para adultos. O teor total de aminoácidos foi de 10,22 g/100g de folhas secas, sendo, 5,6 g/100g (54,8%) de aminoácidos essenciais e 4,62 g/100g (45,2%) de aminoácidos não-essenciais. Entre os aminoácidos essenciais, a leucina com o maior teor (0,98 g/100g de folha seca), e o ácido

glutâmico o aminoácido não-essencial mais abundante (1,08 g/100g de folha seca).

Tabela 2

Composição dos aminoácidos, valores de referência da FAO/WHO (2013), e porcentagem de adequação de aminoácidos essenciais das folhas da espécie *Pereskia aculeata* Mill.

Aminoácido	g/100g (f/s) ¹	FAO/WHO (2013) ² g/g de proteína	AAE ³ (% adequação)
Essenciais			
Arginina	0,61	-	-
Histidina	0,32	1,6	106,87
Isoleucina	0,51	3,0	91,0
Leucina	0,98	6,1	86,0
Lisina	0,79	4,8	88,0
Metionina	0,09	-	-
Fenilalanina	0,66	-	-
Treonina	0,50	2,5	107,18
Valina	0,62	4,0	83,06
Triptofano	0,52	0,6	464,45
Σ subtotal	5,6		
Não-essenciais			
Ácido aspártico	0,65		
Ácido glutâmico	1,08		
Serina	0,53		
Prolina	0,64		
Cistina	0,08		
Glicina	0,75		
Alanina	0,63		
Tirosina	0,56		
Σ subtotal	4,92		
Aminoácidos sulfurados (Met + Cis)	0,17	2,3	39,61
Aminoácidos aromáticos (Fen + Tir)	1,22	4,1	159,46

¹Os resultados representam a média de três determinações; f/s: folha seca. ²Valores de acordo com a referência de g de aminoácido essencial/g de proteína da amostra estudada (18,66g).

³AAE: aminoácido essencial.

Os valores de aminoácidos determinados nas folhas da OPN (total 10,52 g/100g) são inferiores aos encontrados Takeiti et al. (2009), total 26,96 g/100g,

sendo, em média, o dobro do valor encontrado para cada aminoácido no presente estudo. O conteúdo de aminoácidos pode variar, entre a mesma espécie, por alguns fatores como tipo de fertilizante utilizado no solo, a quantidade de luz, idade das folhas, tipo de crescimento (campo ou estufa) e exposição ao estresse causado pelo frio, sendo associado com a biossíntese e metabolismo das plantas (Lee & Kader, 2000; Lisiewska et al., 2011; Yoon et al., 2017). Os dados encontrados nas folhas da OPN são superiores, em todos os aminoácidos analisados, quando comparados com as folhas de espinafre, outro vegetal folhoso, de dois diferentes estudos (Lisiewska et al., 2011; Yoon et al., 2017). No estudo de Lisiewska et al (2011), os autores concluíram que o tratamento térmico geralmente produz aumento significativo no conteúdo de aminoácidos.

Para avaliar a qualidade nutricional dos aminoácidos essenciais presentes nas folhas da OPN, foram calculadas as porcentagens de adequação dos valores de referência (FAO/WHO, 2013). As quantidades de histidina, treonina e a soma dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina e tirosina), encontrados na Tabela 2, apresentaram valores superiores a 100%, sendo que o triptofano apresentou a maior porcentagem de adequação (464,45%), mesmo não sendo o AAE mais abundante. Os aminoácidos têm ação como precursores de neurotransmissores, sendo que o triptofano atua na síntese da serotonina pelo cérebro (Ormstad et al., 2016). Takeiti et al. (2009), também encontraram a maior porcentagem de adequação para o triptofano, porém apenas a lisina e os aminoácidos sulfurados apresentaram níveis menores que 100%.

3.3 Minerais

Os teores dos minerais avaliados são apresentados na Tabela 3. Como pode ser observado, o cálcio foi o mineral mais abundante com média de 5.150 mg/100g, seguido pelos teores de magnésio (média de 2.440 mg/100g) e de potássio (média de 1.440 mg/100g), enquanto o cobre foi o menos abundante, com média de 1,4 mg/100g. De acordo com valores de referência da FAO/WHO (2004), a recomendação diária de consumo de cálcio é de 300 a 700 mg/dia para crianças de 0 a 9 anos, 1.300 mg/dia para adolescentes de 10 a 18 anos, e de 1.000 a 1.300 mg/dia para adultos e idosos, sendo assim as folhas da OPN uma boa fonte desse mineral, podendo melhorar a qualidade

nutricional da dieta de indivíduos que não consomem a recomendação diária de cálcio.

Tabela 3

Teor de minerais das folhas da espécie *Pereskia aculeata* Mill (mg/100g de folha seca).

Mineral	<i>P. aculeata</i> (OPN) ¹	Takeiti et al. (2009) ²	Almeida et al. (2014) ³
Cálcio	5.150	3.420	1.346
Magnésio	2.440	1.900	586
Manganês	20	46,4	43,5
Sódio	20	-	-
Potássio	1.440	1.632	3.910
Cobre	1,4	1,4	1,2
Ferro	15,9	14,2	20,6
Zinco	23,8	26,7	7,3

¹ Os resultados representam a média de três determinações. ² Resultados referentes à mg/100g de folhas secas de acordo com Takeiti et al. (2009). ³ Resultados referentes à mg/100g de folhas secas de acordo com Almeida et al. (2014).

O teor de cálcio encontrado foi superior ao determinado por Takeiti et al. (2009) e Almeida et al. (2014), conforme pode ser visto na Tabela 3. Um ponto interessante a ser ressaltado é que a quantidade de cálcio determinado nas folhas de OPN é superior ao encontrada em leite integral em pó (579 mg/100g), iogurte natural (143 mg/100g) e vários tipos de queijos (minas frescal 579 mg/100g, ricota 253 mg/100g e parmesão 992 mg/100g) (TACO, 2011), os quais são considerados fontes de cálcio. O cálcio é um dos elementos principais no corpo humano, e sua deficiência pode causar doenças como osteoporose, artrite, problemas de crescimento e de desenvolvimento dentário (Kumar et al., 2015). A absorção de cálcio proveniente de vegetais é prejudicada pela presença de substâncias que se complexam ao cálcio, como o ácido oxálico, que gera oxalato de cálcio insolúvel, o qual pode estar presente em elevadas concentrações nos vegetais folhosos (García-Herrera et al., 2014). De acordo com Guil et al. (1996), a relação ácido oxálico/cálcio para evitar o prejuízo de absorção para alimentos é <2,5. O teor de ácido oxálico da OPN encontrado no estudo de Almeida et al. (2014) foi de 41,79 mg/100g em folha seca, sendo a relação ácido oxálico/cálcio de 0,008, sugerindo o autor

que as folhas da OPN não apresentam quantidade necessária de ácido oxálico para formar o complexo com o cálcio.

Também é relevante o teor de ferro encontrado nas folhas da OPN. No estudo de Almeida e Corrêa (2012), que avaliou a utilização de cactáceas do gênero *Pereskia* na alimentação humana no estado de Minas Gerais, 66,67% dos participantes citaram o consumo de ora-pro-nobis como tratamento para a anemia ferropriva, por considerá-la “forte” devido ao elevado teor de ferro da planta. O valor encontrado de 15,9 mg/100g em folha seca, é superior ao estudo de Takeiti et al. (2009), de 14,2 mg/100g em folha seca, porém é inferior ao reportado por Almeida et al. (2014), com um teor de 20,6 mg/100g de folha seca. Os resultados demonstram que as folhas da OPN são capazes de suprir a recomendação de 14 mg/dia de ferro para adultos, se forem consumidas aproximadamente 86 g de folha seca.

4. Conclusão

Esta pesquisa revelou que a espécie *Pereskia aculeata* Mill possui benefícios nutricionais, como altos níveis de proteínas e fibras alimentares, aminoácidos (ácido glutâmico, leucina e triptofano) e minerais (cálcio, magnésio, potássio e ferro). O teor de nitrato encontrado não é suficiente para causar danos tóxicos à saúde humana. Entre os aminoácidos, o ácido glutâmico e a leucina foram os mais abundantes, sendo que o triptofano apresentou 464,45% de adequação em relação aos valores de referência da FAO/WHO (2013) para adultos. No entanto, são necessários mais estudos que avaliem a melhor forma de processamento e preparo das folhas da OPN, já que há evidência de que esses fatores afetam a disponibilidade de nutrientes.

Agradecimento

Os autores gostariam de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro.

Referências

- Almeida, M. E. F. De, & Corrêa, A. D. (2012). Utilização de cactáceas do gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. *Ciência Rural*, 42(4), 751–756. <http://doi.org/10.1590/S0103-84782012000400029>
- Almeida, M. E. F., Junqueira, A. M. B., Simão, A. A., & Corrêa, A. D. (2014). Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como ora-pro-nobis. *Bioscience Journal*, 30(3 SUPPL. 1), 431–439.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemistry (2000) Official Methods of Analysis, 17th ed., Washington, D. C.
- Bahadoran, Z., Mirmiran, P., Ghasemi, A., Kabir, A., & Azizi, F. (2015). Nitric Oxide Is dietary nitrate / nitrite exposure a risk factor for development of thyroid abnormality ? A systematic review and meta-analysis. *Nitric Oxide*, 47(24), 65–76. <http://doi.org/10.1136/bmj.c5306>
- Bahadoran, Z., Mirmiran, P., Jeddi, S., Azizi, F., & Ghasemi, A. (2016). Journal of Food Composition and Analysis Nitrate and nitrite content of vegetables , fruits , grains , legumes , dairy products , meats and processed meats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 51, 93–105. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.06.006>
- Bernardo, L., & Sotelo, A. (1980). Effect of different alkalies , temperature , and hydrolysis times on tryptophan determination of pure proteins and of foods. *Analytical Biochemistry*, 197(1), 192–197. [http://doi.org/10.1016/0003-2697\(80\)90028-7](http://doi.org/10.1016/0003-2697(80)90028-7)
- Brasil. Ministério da Saúde (2002). Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Alimentos regionais brasileiros/ Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde, Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. 1. ed., Brasília: Ministério da Saúde.
- Carvalho, J. L. S., Cunico, M. M., De Dias, J. F. G., Miguel, M. D., & Miguel, O. G. (2009). Termoestabilidade de processos extrativos de *Nasturtium officinale* R. Br., brassicaceae por sistema soxhlet modificado. *Química Nova*, 32(4), 1031–1035. <http://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400034>

- Conceição, M. C., Junqueira, L. A., Guedes Silva, K. C., Prado, M. E. T., & De Resende, J. V. (2014). Thermal and microstructural stability of a powdered gum derived from *Pereskia aculeata* Miller leaves. *Food Hydrocolloids*, 40, 104–114. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.02.015>
- Correia, M., Barroso, Â., Barroso, M. F., Soares, D., Oliveira, M. B. P. P., & Delerue-matos, C. (2010). Contribution of different vegetable types to exogenous nitrate and nitrite exposure. *Food Chemistry*, 120(4), 960–966. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.030>
- Dias, A. C. P., Pinto, N. A. V. D., Yamada, L. T. P., Mendes, K. L., & Fernandes, A. G. (2005). Avaliação Do Consumo De Hortaliças Não Convencionais Pelos Usuários Das Unidades Do Programa Saúde Da Família (Psf) De Diamantina - Mg *. *Alim. Nutr., Araraquara*, 16(3), 279–284.
- Duarte, M. R., & Hayashi, S. S. (2005). Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 15(2), 103–109. <http://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000200006>
- García-Herrera, P., Sánchez-Mata, M. C., Cámara, M., Fernández-Ruiz, V., Díez-Marqués, C., Molina, M., & Tardío, J. (2014). Nutrient composition of six wild edible Mediterranean Asteraceae plants of dietary interest. *Journal of Food Composition and Analysis*, 34(2), 163–170. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.02.009>
- Guil, L., Torija, E., Jose, J., & Gime, A. (1996). Oxalic Acid and Calcium Determination in Wild Edible Plants, 8561(95), 1821–1823. <http://doi.org/10.1021/jf950472a>
- Goyeneche, R., Roura, S., Ponce, A., Vega-G??lvez, A., Quispe-Fuentes, I., Uribe, E., & Di Scala, K. (2015). Chemical characterization and antioxidant capacity of red radish (*Raphanus sativus* L.) leaves and roots. *Journal of Functional Foods*, 16, 256–264. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.049>
- Instituto Adolfo Lutz (2008). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4.ed. cap. 4. São Paulo, SP.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2009). Pesquisa de orçamentos familiares, 2008-2009. Rio de janeiro, RJ.
- Kumbhare, M., Guleha, V., & Sivakumar, T. (2012). Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in-vitro antioxidant activity of stem bark of

- Moringa oleifera. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(2), 144–150.
[http://doi.org/10.1016/S2222-1808\(12\)60033-4](http://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60033-4)
- Kumar, S. S., Manoj, P., & Giridhar, P. (2015). Nutrition facts and functional attributes of foliage of *Basella* spp. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 468–474. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.017>
- Lee, S. K., & Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops, 20, 207–220.
[http://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00133-2](http://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00133-2)
- Lima Junior, F. A., Conceição, M. C., Vilela de Resende, J., Junqueira, L. A., Pereira, C. G., & Torres Prado, M. E. (2013). Response surface methodology for optimization of the mucilage extraction process from *Pereskia aculeata* Miller. *Food Hydrocolloids*, 33(1), 38–47.
<http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.012>
- Lima, J. M., Silva, C. a., Rosa, M. B., Santos, J. B., Oliveira, T. G., & Silva, M. B. (2009). Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* e sua toxicidade sobre o microcrustáceo *Artemia salina*. *Planta Daninha*, 27(1), 7–11.
<http://doi.org/10.1590/S0100-83582009000100002>
- Lisiewska, Z., Kmiecik, W., Gbczy??ski, P., & Sobczy??ska, L. (2011). Amino acid profile of raw and as-eaten products of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Food Chemistry*, 126(2), 460–465.
<http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.015>
- Lundberg, J., Gladwin, M., Ahluwalia, A., Benjamin, N., Brya, N., Butler, A., ... Weitzberg, E. (2014). Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics. *Nat Chem Biol*, 5(12), 865–869.
<http://doi.org/10.1038/nchembio.260>
- Meyer, B. ., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine Shrimp : A Convinient General Bioassay for Active Plant Consyituents. *Kournal of Medicinal Plant Research*, 45(February), 31–34. <http://doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- Mercê, A. L. R., Landaluze, J. S., Mangrich, A. S., Szpoganicz, B., & Sierakowski, M. R. (2001). Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeata* and Co²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, and Ni²⁺. *Bioresource Technology*, 76(1), 29–37. [http://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00078-X](http://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00078-X)

- Merino, F. J. Z., Oliveira, V. B., Paula, C. S., Cansian, F. C., Souza, A. M., Zuchetto, M., ... Miguel, O. G. (2015). Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17(4), 1031–1040. http://doi.org/10.1590/1983-084X/14_137
- Oliveira, D. D. C. D. S., Wobeto, C., Zanuzo, M. R., & Severgnini, C. (2013). Composição mineral e teor de ácido ascórbico nas folhas de quatro espécies olerícolas não-convencionais. *Horticultura Brasileira*, 31(3), 472–475. <http://doi.org/10.1590/S0102-05362013000300021>
- OMS. Organização Mundial da Saúde (2003). Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation, Geneva, 28 January.
- Ormstad, H., Dahl, J., Verkerk, R., Andreassen, O. A., & Maes, M. (2016). Increased plasma levels of competing amino acids , rather than lowered plasma tryptophan levels , are associated with a non-response to treatment in major depression. *European Neuropsychopharmacology*, 26(8), 1286–1296. <http://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2016.05.005>
- Osborne, D. R.; Voogt, P. (1978). *The analysis of nutrient in foods*. (A. Press, Ed.). London, UK.
- Othman, A., Ismail, A., Hassan, F. A., Yusof, B. N. M., & Khatib, A. (2016). Comparative evaluation of nutritional compositions, antioxidant capacities, and phenolic compounds of red and green sessile joyweed (*Alternanthera sessilis*). *Journal of Functional Foods*, 21, 263–271. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2015.12.014>
- Paterson, I. D., Coetzee, J. A., Hill, M. P., & Downie, D. D. (2011). A pre-release assessment of the relationship between the invasive alien plant, *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae), and native plant biodiversity in South Africa. *Biological Control*, 57(1), 59–65. <http://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.12.002>
- Petrobrás (1996). Normas técnicas. Norma técnica N-2588. Determinação da toxicidade aguda de agentes tóxicos em relação à *Artemia sp*.
- Soller, A., Soffiatti, P., Calvente, A., & Goldenberg, R. (2014). Cactaceae no estado do Paraná, Brasil. *Rodriguésia*, 65(1), 201–219.

- Sousa, R. M. F., Lira, C. S., Rodrigues, A. O., Morais, S. A. L., Queiroz, C. R. A. A., Chang, R., ... de Oliveira, A. (2014). Antioxidant activity of ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) leaves extracts using spectrophotometric and voltammetric assays in vitro. *Bioscience Journal*, 30(3 SUPPL. 1), 448–457.
- Souza, A. H. P., Corrêa, R. C. G., Barros, L., Calhelha, R. C., Santos-Buelga, C., Peralta, R. M., ... Ferreira, I. C. F. R. (2015). Phytochemicals and bioactive properties of *Ilex paraguariensis*: An in-vitro comparative study between the whole plant, leaves and stems. *Food Research International*, 78, 286–294. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.032>
- Rosa, S. M., & Souza, L. A. (2003). Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). *Acta Scientiarum - Biological Sciences*, 25(2), 415–428. <http://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v25i2.2046>
- Takeiti, C. Y., Antonio, G. C., Motta, E. M. P., Collares-Queiroz, F. P., & Park, K. J. (2009). Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 Suppl 1(August), 148–160. <http://doi.org/10.1080/09637480802534509>
- Tofanelli, M. B. D., & Resende, S. G. (2011). SISTEMAS DE CONDUÇÃO NA PRODUÇÃO DE FOLHAS DE Ora-pro-nobis. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 41(3), 466–469. <http://doi.org/10.5216/pat.v41i3.12497>
- Ullah, M. O., Haque, M., Urmi, K. F., Abu, A. H., Anita, E. S., Begum, M., & Hamid, K. (2013). Anti-bacterial activity and brine shrimp lethality bioassay of methanolic extracts of fourteen different edible vegetables from Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1), 1–7. [http://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60015-5](http://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60015-5)
- UNICAMP (2011). Tabela Brasileira de Composição de alimentos TACO NEPA. 4. ed. rev. e ampl. Campinas, SP.
- WHO (2003). *Safety Evaluation of Food Additives. Nitrite and Nitrate Intake Assessment*. (WHO Food Additives Series No. 50; JECFA Monograph No 1059), Geneva.
- Yoon, Y., Kuppusamy, S., Man, K., Joo, P., Kwack, Y., & Bok, Y. (2017). Influence of cold stress on contents of soluble sugars , vitamin C and free

amino acids including gamma-aminobutyric acid (GABA) in spinach (*Spinacia oleracea*). *Food Chemistry*, 215, 185–192.
<http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.167>

5. ARTIGO 2 - POTENCIAL ANTIOXIDANTE, ATIVIDADE HEMOLÍTICA E TOXICIDADE FRENTE À *Artemia salina* DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DAS FOLHAS DA ESPÉCIE *Pereskia aculeata* Mill.

“Antioxidant potencial, hemolytic activities and toxicity against *Artemia salina* of extracts and fractions of the species *Pereskia aculeata* Mill leaves.”

Bruna Isadora Trennepohl ^a, Francis José Zortéa Merino ^b, Vania Maria Barbosa ^a, Sila Mary Rodrigues Ferreira ^c, Obdúlio Gomes Miguel ^d. ⁴

^{4 a} Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-graduação em Alimentação e Nutrição. Campus III. Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico. 80.210-170. Curitiba, Paraná, Brasil.

^b Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Campus III. Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim botânico. 80.210-170. Curitiba, Paraná, Brasil.

^c Universidade Federal do Paraná.. Departamento de Nutrição. Programa de Pós-graduação em Alimentação e Nutrição. Campus III. Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico. 80.210-170. Curitiba, Paraná, Brasil.

^d Universidade Federal do Paraná - UFPR. Departamento de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição. Campus III. Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico. 80.210-170.

Resumo

A espécie *Pereskia aculeata* Mill, popularmente conhecida como ora-pro-nobis (OPN), é uma cactácea originária dos trópicos, nativa da flora brasileira, cujas folhas despertam interesse em razão do elevado aporte de proteínas, fibras alimentares, minerais, mucilagens e antioxidantes. O objetivo desse estudo foi avaliar o potencial antioxidante dos extratos e frações da espécie *Pereskia aculeata* Mill através de ensaios *in vitro*, além da sua atividade hemolítica e toxicidade preliminar frente à *Artemia salina*. A amostra foi coletada em Curitiba, submetida à secagem, e, a partir do material seco e estabilizado, foram obtidos os extratos brutos e frações. Na avaliação da atividade antioxidante, todos os extratos apresentaram compostos fenólicos totais, com destaque para as frações acetato de etila de ambos os extratos, sendo 132,32 mg de EAG/g na fração do extrato cetônico e 231,06 mg de EAG/g no extrato alcoólico. Os maiores teores de flavonoides totais foram identificados na fração acetato de etila do extrato cetônico (44,18 mg de EQ/g) e do extrato alcoólico (153,42 mg de EQ/g). Todas as amostras possuem atividade antioxidante por redução do complexo fosfomolibdênio, sendo que a fração acetato de etila do extrato alcoólico apresentou atividade superior à rutina (106,36%). Com relação ao ensaio de redução do DPPH•, as amostras apresentaram diferentes atividades, com valores de IC₅₀ variando entre 25,29 a 389,16 µg/mL, sendo as frações acetato de etila e remanescente do extrato alcoólico apresentando os menores valores (25,26 e 36,52 µg/mL respectivamente). Pelo ensaio do ácido tiobarbitúrico (TBARS), a fração acetato de etila apresenta índice antioxidante (IA) quase três vezes superior ao controle BHT, com valores de 63,01%. As folhas de OPN apresentaram teor de β-caroteno de 181,18 ± 14,59 µg/g, classificado como teor muito alto deste carotenoide. Em relação à atividade hemolítica, observou-se que o extrato bruto cetônico e sua fração hexano, na concentração de 1000 µg/mL, ocorreram as maiores porcentagens de hemólise em relação ao controle. A espécie não apresentou toxicidade em ambos os extratos brutos (cetônico e alcoólico) das folhas, sendo que algumas frações apresentaram toxicidade moderada nas primeiras 24h.

Palavras chave: *Pereskia aculeata* Mill; ora-pro-nobis; atividade antioxidante; carotenoides; atividade hemolítica; toxicidade.

1. Introdução

Os radicais livres (RL) são átomos, íons ou moléculas que possuem pelo menos um elétron desemparelhado em seus orbitais externos, o que permite a transferência de elétrons com moléculas vizinhas já que são altamente instáveis e ativos para reações químicas com outras moléculas (Carocho; Ferreira, 2013). A geração de RL é um processo contínuo e fisiológico, com funções biológicas importantes, já que atuam como mediadores da transferência de elétrons em várias reações bioquímicas, como geração de energia, ativação de genes e em mecanismos de defesa durante processos de infecção (Barbosa et al., 2010). Os RL derivam de três elementos, oxigênio, nitrogênio e enxofre. As espécies reativas de oxigênio (ERO's) são geradas no metabolismo celular em concentrações baixas a moderadas, e apresentam papel fisiológico importante na resposta celular, como contra agentes infecciosos, na sinalização celular e indução da mitose celular (Valko et al., 2007; Shettar et al., 2015). Porém, a produção excessiva de ERO's pode gerar estresse oxidativo contra células e tecidos quando ocorre desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes. O estresse oxidativo está relacionado a várias doenças degenerativas, como câncer, diabetes, aterosclerose e doenças cardiovasculares, por causar dano à estrutura celular, ácidos nucleicos, lipídeos e proteínas (Finkel & Holbrook, 2000; Valko et al., 2007).

O sistema de defesa antioxidante interrompe, previne e/ou reduz essas reações, eliminando e inibindo outras reações de oxidação (Halliwell, 2007). O uso de fontes naturais de antioxidantes é recomendado, por proporcionar efeito terapêutico contra danos oxidativos e reduzir a incidência de doenças relacionadas aos ERO's (Sousa et al., 2014; Embuscado, 2015). Compostos fenólicos, carotenoides, ácido ascórbico, fosfolipídios e esteróis são alguns dos antioxidantes naturais encontrados em alimentos, sendo os compostos fenólicos amplamente presentes nos vegetais. Os antioxidantes são compostos capazes de reduzir o dano oxidativo pela absorção e neutralização de radicais livres, quelando ou decompondo substâncias simples ou compostas (Ashraf et al., 2015). Os vegetais verdes escuros são importantes na dieta uma vez que são fonte de antioxidantes e de compostos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, antocianidinas, isoflavonas), vitaminas (C e E) e carotenoides

(Hussain et al., 2016). Os flavonoides são compostos fenólicos com a capacidade de neutralizar ERO's, diminuindo o estresse oxidativo. Os carotenoides são os pigmentos mais abundantes da natureza, e estão entre os fitoquímicos responsáveis por reduzir o risco de desenvolver algumas doenças degenerativas, como câncer, degeneração macular, e fortalecimento o sistema imunológico (Agostini-Costa et al., 2012; Agostini-Costa et al., 2014).

A espécie *Pereskia aculeata* Mill, popularmente conhecida como ora-pro-nobis (OPN), que pertence ao grupo de hortaliças conhecidas como não-convencionais ou tradicionais, é um vegetal folhoso verde escuro, consumido por muitas pessoas na alimentação em pratos típicos (Lima et al., 2013). A espécie desperta um grande interesse pelo seu valor nutricional, já que apresenta alto teor de proteínas, fibras alimentares, minerais e vitaminas, além do interesse pela indústria devido à presença de compostos bioativos e mucilagens (Takeiti et al., 2009; Oliveira et al., 2013; Almeida et al., 2014; Conceição et al., 2014). Porém, são escassos os estudos relacionados sobre a capacidade antioxidante e atividade biológica das folhas da OPN. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar *in vitro* o potencial antioxidante, a atividade hemolítica e a toxicidade preliminar dos extratos e frações da espécie *Pereskia aculeata* Mill.

2. Material e métodos

2.1 Material vegetal

A espécie foi coletada em dois locais distintos na cidade de Curitiba (coordenadas geográficas 25°22'59.4"S 49°07'37.6"W e 25°25'49,3"S 49°15'27,5"W). A exsiccata foi realizada no Museu Botânico Municipal (MBM) de Curitiba-PR, sob registro de tombamento nº 341967 (ANEXO 1). A pesquisa foi autorizada por meio do processo 010004/2015-7, pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), o qual é credenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/MMA), a acessar e remeter componente do Patrimônio Genético (ANEXO 2).

2.2 Obtenção dos extratos brutos e frações

As folhas *in natura* (2.375 g) foram secas em estufa de circulação de ar a 45°C por 24 horas, e posteriormente trituradas manualmente. A partir do material seco e estabilizado, foi obtido o extrato bruto alcoólico (152,71 g), e, com o mesmo material da extração anterior, obteve-se o extrato bruto cetônico (160,96 g), em sistema fechado à quente em aparelho de Soxhlet modificado, sob o número de registro PI 0601703-7 A, e concentrado em evaporador rotatório, com pressão reduzida a 65 °C e 150 rpm. A partir dos extratos brutos foram obtidas as frações n-hexano, clorofórmio, acetato de etila e a remanescente (partição líquido/líquido com solventes de polaridade crescente) (Carvalho et al., 2009).

2.3 Conteúdo de compostos fenólicos totais

A quantidade de compostos fenólicos totais (CFT) foi avaliada usando o reagente Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich). Os extratos brutos e as frações foram diluídos em metanol na concentração de 1000 µg/mL, e o ensaio foi realizado em triplicata na concentração de 100 µg/µL. Em cada tubo de ensaio foram adicionados 400 µL da amostra, 200 µL do reagente Folin-Ciocalteu e 3 mL de água destilada. Após 3 minutos de repouso, foram adicionados 400 µL de solução de carbonato de cálcio a 10%. Após 30 minutos de repouso ao abrigo da luz, a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1601) a 760nm. Foi utilizado a curva de calibração de ácido gálico nas concentrações de 2,5, 5, 10, 15, 20 µg.mL⁻¹ como padrão (Minussi et al., 2003). Os teores de CFT foram determinados em miligramas equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de extrato bruto, utilizando a seguinte equação com base na curva de calibração: $y=0,0396x-0,054$, $R^2=0,9982$.

2.4 Conteúdo de flavonoides totais

Para avaliação do conteúdo de flavonoides totais (FT), os extratos brutos e suas respectivas frações foram diluídos em metanol na concentração de 1000 µg/ml⁻¹. Foram adicionados 2 ml de AlCl₃ 2%, e o volume da amostra completado para 2 mL. Após 60 minutos de repouso, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro Shimadzu Modelo UV-1601 à 420 nm. Como

padrão, foi realizada curva de calibração de quercetina nas concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 e 30 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Chang et al., 2002). Os teores de FT foram determinados em miligramas equivalente de quercetina (EQ) por grama de extrato bruto, utilizando a seguinte equação com base na curva de calibração: $y=0,0314x-0,0164$, $R^2=0,9996$.

2.5 Teor de β -caroteno

O processo de extração dos carotenoides foi realizado de acordo com Rodriguez-Amaya (2001). Foi realizada extração, com a mistura de 2,5 g das folhas secas em 20mL de acetona, em agitador magnético por 1 h à temperatura ambiente, mantendo-se a amostra protegida da luz. O extrato foi filtrado em membrana de celulose sob vácuo, e transferido para tubo de centrífuga, onde foram adicionados 20 mL de éter de petróleo e 10 mL de água destilada deionizada. A centrifugação foi realizada em centrífuga Sigma 4K15, a 3000 rpm por 10 minutos. Posteriormente, a solução dos pigmentos em éter de petróleo foi transferida para um balão volumétrico, completando-se o volume para 50 mL com éter de petróleo. O teor de carotenoides totais foi determinado em espectrofotômetro (Glod S53 UV-Vis, Ningbo Biocotek) a 450nm, e foram calculados pela seguinte equação:

$$\text{Teor de } \beta \text{ caroteno } \mu\text{g/g} = \frac{A \times V \times 10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times M \times 100}$$

Onde A = absorbância da solução no comprimento de onda de 450 nm; V = volume final da solução; $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = coeficiente de extinção (2592); M = massa a amostra tomada para a análise.

2.6 Avaliação da atividade antioxidante

2.6.1 Ensaio de redução do complexo fosfomolibdênio

A reação para formação do complexo fosfomolibdênio foi realizada de acordo com a técnica descrita por Prieto, Pineda e Aguilar (1999), o qual determina a capacidade antioxidante por uma reação de oxido-redução. Foi preparado o reativo que consiste em uma solução fosfato de sódio 0,1 mol/L

(28 mL), molibdato de amônio 0,03 mol/L (12 mL) e ácido sulfúrico 3 mol/L (20 mL), sendo o volume completado com água destilada para 100 mL. Os extratos brutos e as frações foram preparados na concentração de 200 µg/mL em metanol, assim como os padrões utilizados, vitamina C e rutina. Em tubos de ensaio foram adicionadas alíquotas de 0,3 mL de cada amostra, e adicionados 3 mL da solução reagente. O branco foi constituído de 0,3 mL de metanol e 3 mL de reativo. Os tubos foram fechados e mantidos em banho-maria a 95°C por 90 minutos. Após atingir a temperatura ambiente, foi realizada a leitura das absorbâncias (Abs) em espectrofotômetro de UV-1800 PC Shimadzu®, à 695 nm. Os resultados foram expressos como atividade antioxidante relativa (AAR) da amostra em relação aos padrões, conforme a equação:

$$AAR (\%) = \frac{(\text{Abs amostra} - \text{Abs branco})}{(\text{Abs padrão} - \text{Abs branco})} \times 100$$

2.6.2 Avaliação da capacidade antioxidante pela redução do radical DPPH

A avaliação do potencial de redução do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•) foi realizada de acordo com Mensor et al. (2001). Foram preparadas diluições em concentrações crescentes para cada amostra (extratos brutos e frações), as quais ficaram em meio reacional com 1 mL da solução de DPPH a 0,03 mmol/mL. Para cada amostra e concentração foi preparado um branco com 2,5 mL da solução da amostra e 1 mL de metanol. Paralelamente foi realizado um controle com 2,5 mL de metanol e 1 mL de DPPH•. Como padrões foram utilizados a vitamina C e a rutina. Após 30 minutos, as absorbâncias das soluções foram medidas a 518 nm em espectrofotômetro Shimadzu® UV-1800. A atividade sequestrante do radical DPPH foi expressa em porcentagem de atividade antioxidante (AA%), calculada através da fórmula:

$$AA(\%) = 100 - \frac{(\text{Abs amostra} - \text{Abs branco})}{(\text{Abs controle})}$$

Para comparar os resultados obtidos, foram calculados por regressão linear os valores da concentração inibitória necessária para exercer 50% da atividade antioxidante (IC₅₀). No intervalo linear, foi estabelecida a equação da reta do

tipo $y = ax + b$, sendo determinada para cada amostra analisada os valores de IC_{50} .

2.6.3 Avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O ensaio de inibição da peroxidação lipídica, avaliada pela diminuição das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi realizado de acordo com Moraes et al. (2006). Em tubos de ensaio, foram adicionados 0,5 mL de solução de gema de ovo (10% p/v), 0,1 mL de amostra ou padrão butilhidroxidotolueno (BHT) 1000 ppm, e o volume foi completado com água destilada para 1 mL. Em seguida, foi acrescentado a cada um dos tubos de ensaio 0,05 mL de solução de 2,2'-azobis (2-amidinopropano) dihidroclorato (ABAP) 0,07 mol.L⁻¹, 1,5 mL de solução de ácido acético 20% (pH 3,5) e 1,5 mL de solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,8% p/v em solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) 1,1% p/v. Os tubos de ensaio foram incubados a 95°C por 1 hora. Após atingir temperatura ambiente, foram acrescentados 5 mL de n-butanol em cada tubo, que foram centrifugados durante 10 minutos a 3000 rpm. Os sobrenadantes foram submetidos ao espectrofotômetro em 532 nm. A atividade antioxidante foi determinada pelo Índice Antioxidante (IA), segundo a equação:

$$IA (\%) = \frac{(1 - \text{Abs amostra})}{(\text{Abs controle})} \times 100$$

2.7 Atividade hemolítica

A determinação das porcentagens de hemólise foi realizada segundo método de Banerjee et al. (2008), adaptado. Foram transferidos 5 mL de sangue de carneiro de origem comercial da empresa Newprov®, previamente homogeneizado sob leve agitação, para um tubo de ensaio e centrifugado durante 5 minutos a 3000 rpm com PBS gelado. Foram realizadas 6 lavagens sequenciais com PBS até o sobrenadante ficar incolor. Os eritrócitos foram diluídos a 2% com PBS.

Foram preparados eppendorfs com hemólise a 100% (controle positivo) (200 µL de água potável em 200 µL de solução de eritrócito a 2%), hemólise basal (branco) (200 µL de PBS em 200 µL de solução de eritrócito a 2%), controle solvente (20 µL de etanol mais 180 µL de PBS em 200 µL de solução

de eritrócito a 2%) e os testes (amostras). As amostras foram preparadas nas concentrações de 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 200 µg/mL e 100 µg/mL em 200 µL de solução de eritrócito a 2%. Para dissolver melhor as amostras foi adicionado 10% de etanol do volume total de cada amostra.

Os eppendorfs foram uniformemente homogeneizados com leve agitação manual e incubados durante 3 h em estufa com a 37°C. Ao término da incubação os eppendorfs foram centrifugados em centrífuga Minispin Plus da empresa Eppendorf® a 3000 rpm durante 5 minutos. A leitura da absorbância (540 nm) dos sobrenadantes foram realizadas no leitor de microplacas de Elisa 96 poços Multiscan FC (Thermo Scientific®).

2.8 Avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina* foi realizado segundo Meyer et al. (1982). Foram adquiridos os ovos de crustáceo da espécie *Artemia salina*, que foram eclodidos em água salina, preparada com 14,31 g de sal marinho e dissolvido em 400 mL de água purificada. Para esta quantidade, foram adicionados 200 mg dos ovos do crustáceo. O pH foi mantido entre 8,0 e 9,0 para evitar a morte dos crustáceos. A temperatura foi controlada entre 27°C e 30°C e a solução foi mantida sob agitação e aeração constante por 48 horas. Nas primeiras horas do processo foi mantida iluminação (20 W) sobre o recipiente. Foi preparada uma solução com os extratos brutos e as suas frações em concentrações de 1000, 100 e 10 µL/mL, todos em triplicata. Foram colocados 10 crustáceos em cada frasco contendo as amostras, e nos tubos controles. Após 24 horas foi realizada a contagem dos náuplios vivos com auxílio de lupa e iluminação incandescente. As amostras foram consideradas ativas quando a DL₅₀ for menor que 1000µg/mL. Meyer et al. (1982) comentam que são consideradas tóxicas amostras que apresentam DL₅₀ < 1000 µg/mL. Porém, Amarante et al. (2011) descreveram uma relação entre o grau de toxicidade e DL₅₀ mais detalhada: baixa toxicidade: DL₅₀ > 500 µg/mL; moderada toxicidade: 100 µg/mL < DL₅₀ < 500 µg/mL; e alta toxicidade: DL₅₀ < 100 µg/mL.

2.9 Análise estatística

Para a análise estatística dos dados obtidos, foi utilizado o software GraphPad Prism (Build 80) através do teste de análise de variância (ANOVA), e comparação de médias através do teste de Tukey. Os dados da análise de toxicidade foram submetidos à análise pelo método estatístico *Probitos* e determinados os valores da dose letal (DL_{50}) com 95% de intervalo de confiança.

3. Resultados e discussão

3.1 Conteúdo de compostos fenólicos totais

Os resultados obtidos do ensaio pelo método de Folin Ciocalteu estão representados na Tabela 4.

Tabela 4

Compostos fenólicos totais e flavonoides totais dos extratos brutos e frações das folhas de *P. aculeata* Mill.

Amostra	CFT (mg de EAG/g do extrato bruto e frações \pm DP)	FT (mg de EQ/g do extrato bruto e frações \pm DP)
ECB	120,37 \pm 6,49 ^b	-
ECFH	80,98 \pm 6,93 ^a	-
ECFC	81,40 \pm 2,18 ^a	-
ECFAE	132,32 \pm 11,35 ^b	44,18 \pm 2,39 ^b
ECR	59,93 \pm 3,59 ^a	29,00 \pm 3,52 ^a
EAB	136,53 \pm 17,71 ^b	131,44 \pm 5,12 ^c
EAFH	45,29 \pm 2,93 ^a	-
EAFC	119,28 \pm 11,87 ^b	47,37 \pm 7,80 ^b
EAFAE	231,06 \pm 19,38 ^d	153,42 \pm 1,87 ^b
EAR	184,68 \pm 25,12 ^c	39,41 \pm 2,71 ^{a,b}

ECB: extrato cetônico bruto; EC/FH: extrato cetônico/fração hexano; EC/FC: extrato cetônico/fração clorofórmio; EC/FAE: extrato cetônico/fração acetato de etila; ECR: extrato cetônico remanescente; EAB: extrato alcoólico bruto; EA/FH: extrato alcoólico/fração hexano; EA/FC: extrato alcoólico/fração clorofórmio; EA/FAE: extrato alcoólico/fração acetato de etila; EAR: extrato alcoólico remanescente. CFT: Compostos fenólicos totais; EAG: Equivalente Ácido Gálico; FT: Flavonoides totais; EQ: Equivalente Quercetina; DP: Desvio Padrão; - : Resultados influenciados pela coloração. Resultados seguidos da mesma letra na mesma coluna não apresentaram diferença significativa.

Os resultados mostram que os extratos brutos e as frações contêm elevada concentração de CFT, variando de $45,29 \pm 2,93$ a $231,06 \pm 19,38$ mg de EAG/g nos extratos alcoólicos e $59,93 \pm 3,59$ a $132,32 \pm 11,35$ mg de EAG/g nos extratos cetônicos. Em ambos os extratos a fração acetato de etila apresentou o maior conteúdo de compostos fenólicos. Além disso, observa-se que o conteúdo de compostos fenólicos é distinto para os dois extratos. Esse fato pode ser explicado pela diferença de polaridade dos solventes, solubilidade dos compostos e outras interações (Chan et al., 2009).

Os valores de CFT encontrados nas folhas de OPN são superiores aos relatados por Sousa et al. (2014), ao avaliarem o conteúdo de compostos fenólicos das folhas de OPN, 95,6 mg EAG/g no extrato alcoólico (etanol 70%), e 117,8 mg EAG/g no extrato cetônico. Hussain et al. (2016), ao avaliarem a atividade antioxidante das folhas de espinafre (*Spinacia oleracea* L.), relatou teores de CFT médio de 208,4 mg/100g. Já os extratos metanólicos das folhas de couve-chinesa (*Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis*) apresentaram teores que variaram de 148,81 mg EAG/100g nas folhas internas, a 347,46 mg EAG/100g nas folhas externas do vegetal (Seong, Hwang & Chung, 2016). Em geral, o conteúdo de CFT pode variar de acordo com o tipo de cultivo, área de crescimento e hora da coleta da planta (Ado et al., 2016).

3.2 Conteúdo de flavonoides totais

A quantidade de flavonoides totais dos extratos brutos e frações das folhas de *P. aculeata* Mill, apresentados na Tabela 4, foram expressos em mg de equivalente de quercetina (mg EQ/g). As frações acetato de etila de ambos os extratos apresentaram os melhores resultados ($44,18 \pm 2,39$ mg EQ/g no extrato cetônico, e $153,42 \pm 1,87$ mg EQ/g no extrato alcoólico), seguido pela fração remanescente do extrato cetônico, e do extrato bruto e frações clorofórmio e remanescente do extrato alcoólico. Os flavonoides são comumente isolados na fração acetato de etila devido à sua elevada polaridade, o que explica a maior atividade antioxidante desta fração (Paula et al., 2014).

Os valores encontrados no presente estudo são superiores aos relatados por Pinto et al. (2012), ao avaliar a mesma espécie, com valores que variaram de 8,33 a 54,58 mg ER/g. Já nas folhas de colza (*Brassica napus* L. var. *napus*)

e de couve crespa (*Brassica oleraceae* L. var. *costata*), os valores de flavonoides são superiores, com teor médio de 220 mg/100g (Batista et al., 2011). Variações como estação do ano, condições climáticas e fatores ambientais podem influenciar significativamente a quantidade de compostos fenólicos e de flavonoides nas plantas (Ashraf et al., 2015).

3.3 Teor de β -caroteno

As folhas de OPN apresentaram teor de β -caroteno de $181,18 \pm 14,59 \mu\text{g/g}$, de acordo com o método descrito por Rodriguez-Amaya (2001). De acordo com os valores de referência sugeridos por Britton e Khachik (2009) para classificação dos níveis individuais de carotenoides, como baixos ($<1 \mu\text{g/g}$), moderado ($1-5 \mu\text{g/g}$), alto ($5-20 \mu\text{g/g}$) e muito alto ($>20 \mu\text{g/g}$), as folhas de OPN são classificadas com teor muito alto de β -caroteno. Juntamente com a clorofila, os carotenoides são os pigmentos mais abundantes da natureza, e apresentam funções fisiológicas nas plantas e importantes funções na saúde humana. São substâncias lipossolúveis, com diversas atividades biológicas e alto potencial de ação como compostos funcionais, sendo os mais abundantes a luteína, a zeaxantina e o β -caroteno (Agostini-Costa et al, 2014; Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

Agostini-Costa et al. (2014), ao avaliarem as folhas de *P. aculeata* em diferentes exposições solares, encontrou conteúdo de β -caroteno médio de $18,6 \pm 4,76 \mu\text{g/g}$ para as folhas a pleno sol e $35,1 \pm 4,09 \mu\text{g/g}$ para as folhas à meia sombra. Já no estudo da couve-chinesa (*Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis*), as folhas externas apresentaram valor superior ($18,87 \pm 0,01 \text{ mg/100g}$) às folhas internas ($3,93 \pm 0,01 \text{ mg/100g}$) (Seong, Hwang & Chung, 2016). A maior exposição solar durante o cultivo pode gerar maior atividade antioxidante da planta já que é associada ao aumento da biossíntese de carotenoides; no entanto, sob excesso de luz solar, pode prevalecer a fotodegradação dos compostos nas folhas (Ji et al, 2011; Agostini-Costa et al, 2014).

3.4 Avaliação da atividade antioxidante

3.4.1 Ensaio de redução do complexo fosfomolibdênio

A determinação da atividade antioxidante pela formação do complexo fosfomolibdênio foi calculada em relação aos padrões rutina e vitamina C, cujas atividades foram consideradas como 100%. Os resultados encontrados (Tabela 5) revelam que todas as amostras (extratos brutos e frações) possuem atividade antioxidante por redução do complexo fosfomolibdênio. Em comparação com a atividade da rutina, pode-se observar que a fração acetato de etila do extrato alcoólico apresentou a maior atividade (106,36%), sendo superior à rutina, seguido pela fração hexano do extrato alcoólico (89,71%). Em relação aos extratos cetônicos, o extrato bruto e a fração hexano apresentaram maior potencial antioxidante em relação à rutina (84,05% e 82,08% respectivamente). Comparando com a atividade antioxidante da vitamina C, apenas as frações acetato de etila e remanescente do extrato bruto alcoólico apresentaram atividade acima de 30%.

A redução do complexo fosfomolibdênio é método essencial para determinar o potencial antioxidante de extrato de plantas, com a capacidade de avaliar a atividade antioxidante de componentes lipofílicos e hidrofílicos (Merino et al., 2015). Correlacionando com os dados encontrados, os teores de CFT e FT reagem com o complexo, já que em ambos os testes as mesmas frações (acetato de etila e extratos brutos) apresentaram os melhores resultados. Murugan et al. (2016), ao avaliarem a capacidade antioxidante das folhas de *Breynia retusa*, utilizada por tribos Indianas no tratamento da hiperglicemia, encontrou os resultados de 10,5 e 6,31% para o extrato bruto e fração acetato de etila, respectivamente, quando comparados ao padrão vitamina C, abaixo do encontrado nas folhas de OPN. Girin & El (2015), demonstraram que amostras de couve-flor (*Brassica oleraceae* L. var *Botrytis*), obtiveram um aumento de 17% da capacidade antioxidante pelo método fosfomolibdênio, quando foram preparadas por cocção a vapor, indicando este como o melhor método de cocção para consumo do vegetal.

Tabela 5

Análise antioxidante utilizando os métodos Fosfomolibdênio, DPPH e TBARS dos extratos brutos e frações das folhas de *Pereskia aculeata* Mill.

Amostra	Redução do complexo fosfomolibdênio		Redução do radical DPPH	TBARS
	Atividade antioxidante em relação à Rutina - AA(%) \pm DP	Atividade antioxidante em relação à Vitamina C - AA(%) \pm DP	IC ₅₀ (μ g/mL) \pm DP	IA (%) \pm DP
BHT	-	-	-	22,58 \pm 0,02 ^b
Vitamina C	-	100 ^f	4,92 \pm 0,065 ^a	-
Rutina	100 ^d	-	6,15 \pm 0,076 ^a	-
ECB	84,05 \pm 4,33 ^c	25,42 \pm 1,31 ^d	83,18 \pm 3,349 ^f	14,64 \pm 0,08 ^b
ECFH	82,08 \pm 4,13 ^c	24,83 \pm 1,25 ^d	389,16 \pm 3,292 ⁱ	0 \pm 0,16 ^a
ECFC	79,56 \pm 7,36 ^c	29,19 \pm 2,70 ^e	106,32 \pm 0,509 ^g	32,84 \pm 0,02 ^c
ECFAE	53,45 \pm 3,68 ^b	19,61 \pm 1,35 ^b	39,99 \pm 0,192 ^d	18,49 \pm 0,06 ^b
ECR	61,19 \pm 2,08 ^b	22,45 \pm 0,76 ^c	46,95 \pm 0,299 ^e	37,67 \pm 0,01 ^c
EAB	87,05 \pm 5,71 ^c	26,33 \pm 1,72 ^d	48,33 \pm 0,428 ^e	27,95 \pm 0,04 ^c
EAFH	44,75 \pm 3,99 ^a	16,42 \pm 1,46 ^a	273,05 \pm 1,916 ^h	28,40 \pm 0,04 ^c
EAFC	89,71 \pm 4,02 ^c	27,13 \pm 1,21 ^d	85,89 \pm 2,079 ^f	43,74 \pm 0,06 ^c
EAFAE	106,36 \pm 4,16 ^d	32,17 \pm 1,26 ^e	25,29 \pm 0,927 ^b	63,01 \pm 0,05 ^c
EAR	82,60 \pm 6,45 ^c	30,31 \pm 2,36 ^e	36,52 \pm 0,308 ^c	38,46 \pm 0,04 ^c

ECB: extrato cetônico bruto; EC/FH: extrato cetônico/fração hexano; EC/FC: extrato cetônico/fração clorofórmio; EC/FAE: extrato cetônico/fração acetato de etila; ECR: extrato cetônico remanescente; EAB: extrato alcoólico bruto; EA/FH: extrato alcoólico/fração hexano; EA/FC: extrato alcoólico/fração clorofórmio; EA/FAE: extrato alcoólico/fração acetato de etila; EAR: extrato alcoólico remanescente. AA: Atividade Antioxidante; IC₅₀: concentração inibitória; IA: índice antioxidante; DP: Desvio Padrão. Resultados seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente (p < 0,05).

3.4.2 Avaliação da capacidade antioxidante pela redução do radical DPPH

A capacidade redutora dos extratos e frações da OPN do radical DPPH é apresentada na Tabela 5. O IC₅₀ é a concentração de extrato necessária para reduzir 50% a atividade do DPPH•, e quanto menor o valor, maior é a atividade antioxidante do extrato avaliado. As amostras apresentaram diferentes atividades, com valores de IC₅₀ variando entre 25,29 a 389,16 µg/mL, sendo as frações acetato de etila e remanescente do extrato alcoólico com os menores valores (25,26 e 36,52 µg/mL respectivamente), seguido pelas frações acetato de etila (39,99 µg/mL) e remanescente do extrato cetônico (46,95 µg/mL) e extrato alcoólico bruto (48,33 µg/mL). As amostras com valores de IC₅₀ abaixo de 50 µg/mL indicam elevada atividade antioxidante de acordo com Reynertson et al. (2005).

Os resultados encontrados neste estudo são semelhantes aos de Sousa et al. (2014), ao avaliarem a atividade antioxidante dos extratos alcoólico e cetônico bruto das folhas de OPN, com IC₅₀ de 56,6 e 49,1 µg/mL respectivamente. Kumar, Manoj & Giridhar (2015), encontraram valores de IC₅₀ de 4,3 e 4,2 mg/100g nas folhas de duas espécies de bertalha (*Basella alba* e *B. rubra*), demonstrando o potencial antioxidante de outro vegetal verde escuro não-convencional. Verificou-se elevada correlação entre os resultados encontrados no presente estudo, ao analisar os valores de IC₅₀ e teor de CFT e FT, o que pode indicar que esses compostos são responsáveis por sequestrar o DPPH•.

3.4.3 Avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

No ensaio de peroxidação lipídica, observou-se que a fração acetato de etila (63,01%) apresentou índice antioxidante (IA) quase três vezes superior ao controle BHT (22,58%) (Tabela 5). Observa-se que todas as amostras apresentaram atividade inibitória da peroxidação lipídica, exceto a fração clorofórmio do extrato cetônico, sugerindo que a OPN possa exercer ação protetora às membranas celulares contra RL e ERO's, principalmente na oxidação de ácidos graxos poliinsaturados (Stephens, Khanolkar & Bain, 2009). Dessa forma, empregando espécies de plantas comestíveis na alimentação, pode-se evitar o estresse oxidativo causado pelas ERO's, que desempenham

papel fundamental na fisiopatologia de doenças como neoplasias, aterosclerose e doenças neurodegenerativas (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

Os extratos das folhas de *Breynia retusa* apresentaram IA entre 4,94% e 25,28%, em relação ao padrão BHT tendo o extrato metanólico bruto o maior índice, porém, ao analisar os resultados de porcentagem de inibição do padrão de quercitina, os autores encontraram IA de 58,91%, contra 24,34% para o padrão BHT (Murugan et al., 2016). A quercitina pertence à classe flavonol da família dos flavonoides, e está naturalmente presente na grande maioria dos vegetais e frutas. Os compostos fenólicos abrangem uma série de substâncias, incluindo desde moléculas simples a outras com elevado grau de polimerização, o que comprova a atividade antioxidante dos ácidos fenólicos na inibição da peroxidação lipídica (Merino et al., 2015; Santi et al., 2015).

3.5 Atividade hemolítica

A atividade hemolítica dos extratos e frações das folhas de OPN é apresentada nas Figuras 4 e 5. Observa-se que no extrato bruto cetônico e sua fração hexano, na concentração de 1000 µg/mL, ocorreram as maiores porcentagens de hemólise em relação ao controle. Nos extratos alcoólicos, as frações clorofórmio e hexano apresentaram as maiores porcentagens na concentração de 1000 µg/mL, porém ambas inferiores ao encontrado no extrato cetônico. A maioria das amostras possui resposta dose dependente, sendo que algumas apresentaram variações entre as concentrações.

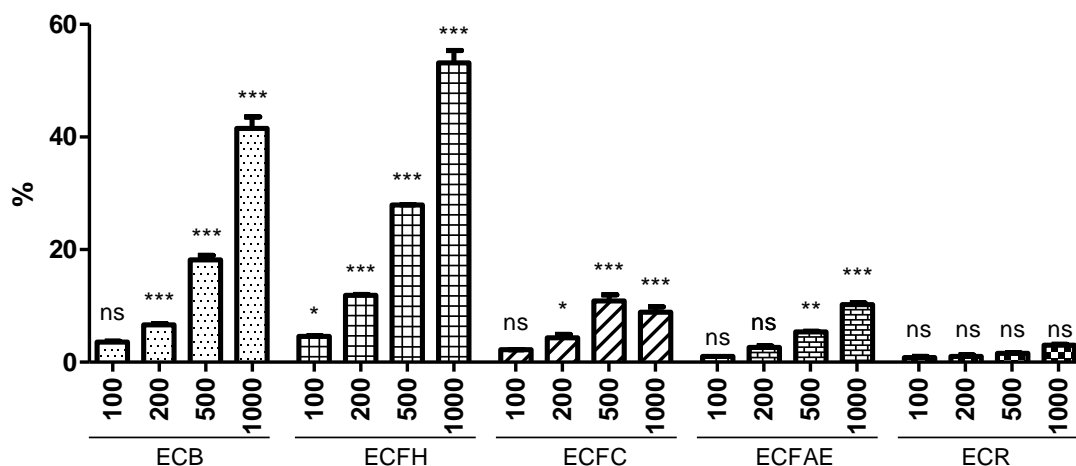


Figura 4 - Porcentagem de hemólise dos extratos cetônico e frações de *Pereskia aculeata* Mill. ns: não significativo; nível de significância * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ e *** $p < 0.001$ quando comparado ao controle BHT. ECB: extrato cetônico bruto; ECFH: extrato cetônico/fração hexano; ECFC: extrato cetônico/fração clorofórmio; ECFAE: extrato cetônico/fração acetato de etila; ECR: extrato cetônico remanescente

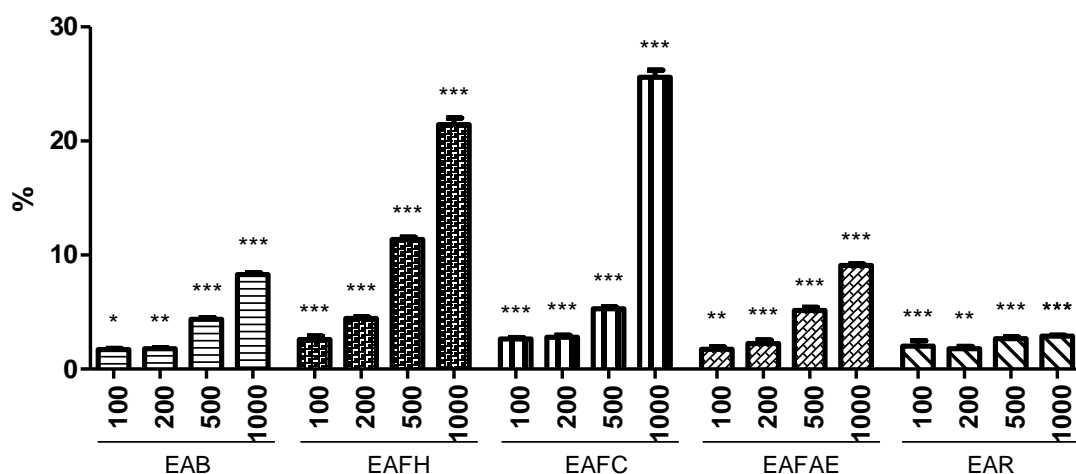


Figura 5 - Porcentagem de hemólise dos extratos alcoólicos e frações de *Pereskia aculeata* Mill. Nível de significância * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ e *** $p < 0.001$ quando comparado ao controle BHT. ECB: extrato cetônico bruto; ECFH: extrato cetônico/fração hexano; EC/C: extrato cetônico/fração clorofórmio; ECFAE: extrato cetônico/fração acetato de etila; ECR: extrato cetônico remanescente

A ação hemolítica de drogas e produtos naturais pode ocorrer por diversos mecanismos. As saponinas, glicosídeos do metabolismo secundário vegetal, ocasionam efeito hemolítico por aumentarem a permeabilidade da membrana plasmática, facilitando a passagem de macromoléculas para a

célula, ocasionando desequilíbrio no balanço sódio/potássio (Zhering et al., 2015). As frações hexano e clorofórmio apresentam a maior porcentagem de hemólise por extraírem substâncias mais apolares, que permeiam a membrana plasmática com maior facilidade, devido à sua característica lipofílica. Almeida et al. (2014), ao avaliar os compostos bioativos e antinutrientes das folhas de OPN, encontrou teor de saponinas de $0,29 \pm 0,01$ mg/100g de folha seca, sugerindo que, mesmo consumida diariamente, não é suficiente para causar toxicidade. As baixas porcentagens de hemólise das frações acetato de etila e remanescente demonstram atividade protetora, o que está associado aos maiores níveis de substâncias antioxidantes, corroborando com o teor de compostos fenólicos e flavonoides totais.

3.6 Avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina*

A avaliação da toxicidade frente à *A. salina* permite a avaliação da toxicidade geral, sendo considerado essencial como bioindicador preliminar no estudo de amostras com potencial atividade biológica (Merino et al., 2015). Como pode ser verificada na Tabela 6, a letalidade dos microcrustáceos aumentaram com a concentração.

Tabela 6

Ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina* dos extratos brutos e frações das folhas da *Pereskia aculeata* Mill.

AMOSTRA	DL ₅₀ (µg/mL)	INTERVALO DE CONFIANÇA 95%
	24 h	24 h
ECB	> 1000	-
ECFH	> 1000	-
ECFC	> 1000	-
ECFAE	255,93	192,10 – 340,97
ECR	> 1000	-
EAB	> 1000	-
EAFH	>1000	-
EAFC	427,52	306,99 – 595,36
EAFAE	>1000	-
EAR	> 1000	-

ECB: extrato cetônico bruto; EC/FH: extrato cetônico/fração hexano; EC/FC: extrato cetônico/fração clorofórmio; EC/FAE: extrato cetônico/fração acetato de etila; ECR: extrato cetônico remanescente; EAB: extrato alcoólico bruto; EA/FH: extrato alcoólico/fração hexano; EA/FC: extrato alcoólico/fração clorofórmio; EA/FAE: extrato alcoólico/fração acetato de etila; EAR: extrato alcoólico remanescente; DL: dose letal.

Observa-se que ambos os extratos brutos (cetônico e alcoólico) não ocasionaram imobilidade nos indivíduos no períodos de 24h, considerados livres de toxicidade as *A. salina*, assim como as frações hexano e remanescente do extrato cetônico. As frações acetato de etila do extrato bruto cetônico e clorofórmio do extrato bruto alcoólico foram consideradas moderadamente tóxicas no período avaliado.

Estudos realizados com outras espécies de plantas mostraram-se tóxicas frente à *A. salina*, como exposto por Kumbhare et al. (2012), onde os extratos éter de petróleo, clorofórmio e metanólico das folhas de *Moringa oleífera* apresentaram uma DL_{50} de 850, 800 e 900 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Ullah et al. (2013) avaliando quatorze diferentes vegetais de Bangladesh encontraram significativa toxicidade em todos os extratos contra o microcrustáceo *A. salina*, com valores de DL_{50} entre 8,477 a 60,323 $\mu\text{g/mL}$.

Ao contrario dos resultados encontrados para OPN, no estudo de Merino et al. (2015), o extrato bruto etanólico e as frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén não apresentaram toxicidade preliminar para a *A. salina*, apresentando uma $DL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ para todas as amostras analisadas. O mesmo foi encontrado por Lima et al. (2009) ao avaliar a toxicidade das folhas de serralha (*Sonchus oleraceus*), no qual visualizou-se DL_{50} igual a 5.120 $\mu\text{g/mL}$, indicando baixa toxicidade do extrato.

4. Conclusão

Os extratos brutos e as frações das folhas de OPN apresentaram atividade antioxidante significativa em todos os ensaios realizados. Todas as amostras apresentaram teores de CFT e atividade antioxidante pelo método fosfomolibdênio. O teor de FT encontrado em algumas amostras foi significativo, assim como baixas concentrações para inibição do radical DPPH• e altos índices antioxidantes pelo método TBARS. A fração acetato de etila apresentou os melhores resultados em todos os testes antioxidantes realizados, destacando a alta concentração de compostos bioativos polares. O teor de β -caroteno das folhas OPN encontrado é classificado como muito alto.

Os resultados da atividade hemolítica indicam que o consumo das folhas de OPN é seguro apesar de algumas frações apresentarem porcentagens de

hemólise. Ensaios fitoquímicos e de separação de compostos são necessários para identificar os agentes tóxicos, bem como análise da melhor forma de preparo do vegetal para consumo que diminua a formação de antinutrientes. No estudo preliminar de avaliação de toxicidade, ambos os extratos brutos (cetônico e alcoólico) das folhas não apresentaram toxicidade, sendo que algumas frações apresentaram toxicidade moderada nas primeiras 24h. Comprovou-se que, quanto maior a concentração, maior probabilidade de se tornar tóxico ao organismo avaliado. Estudos para identificar os compostos responsáveis por essa possível toxicidade são necessários.

Agradecimento

Os autores gostariam de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro.

Referências

- Ado, M. A., Abas, F., Leong, S. W., Shaari, K., Ismail, I. S., Ghazali, H. M., & Lajis, N. H. (2016). Chemical constituents and biological activities of *Callicarpa maingayi* leaves. *South African Journal of Botany*, 104, 98–104. <http://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.11.010>
- Agostini-Costa, T. da S., Wondracek, D. C., Rocha, W. da S., & Silva, D. B. da. (2012). Carotenoids profile and total polyphenols in fruits of *Pereskia aculeata* Miller. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(1), 234–238. <http://doi.org/10.1590/S0100-29452012000100031>
- Agostini-Costa, T. S., Pêsoa, G. K. A., Silva, D. B., Gomes, I. S., & Silva, J. P. (2014). Carotenoid composition of berries and leaves from a Cactaceae - *Pereskia* sp. *Journal of Functional Foods*, 11(C), 178–184. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2014.09.015>
- Almeida, M. E. F., Junqueira, A. M. B., Simão, A. A., & Corrêa, A. D. (2014). Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como ora-pro-nobis. *Bioscience Journal*, 30(3 SUPPL. 1), 431–439.
- Ashraf, A., Sarfraz, R. A., Mahmood, A., & Din, M. ud. (2015). Chemical composition and in vitro antioxidant and antitumor activities of *Eucalyptus*

- camaldulensis Dehn. leaves. *Industrial Crops and Products*, 74, 241–248.
<http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.059>
- Banerjee, A., Kunwar, A., Mishra, B., & Priyadarsini, K. I. (2008). Concentration dependent antioxidant/pro-oxidant activity of curcumin. Studies from AAPH induced hemolysis of RBCs. *Chemico-Biological Interactions*, 174(2), 134–139. <http://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.05.009>
- Barbosa, K. B. F., Costa, N. M. B., De Cássia Gonçalves Alfenas, R., De Paula, S. O., Minim, V. P. R., & Bressan, J. (2010). Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutricao*, 23(4), 629–643. <http://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>
- Batista, C., Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2011). Nutritional and nutraceutical potential of rape (*Brassica napus* L. var. *napus*) and “tranchuda” cabbage (*Brassica oleraceae* L. var. *costata*) inflorescences. *Food and Chemical Toxicology*, 49(6), 1208–1214. <http://doi.org/10.1016/j.fct.2011.02.023>
- Britton, G., & Khachik, F. (2009). Carotenoids in foods. In G. Britton, S. Liaaen-Jensen, & H. E. Pfander (Eds.), *Carotenoids* (Vol. 5, pp. 45–66). Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. F. R. (2013). A review on antioxidants , prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds , screening and analysis methodologies and future perspectives, 51, 15–25. <http://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>
- Carvalho, J. L. S., Cunico, M. M., De Dias, J. F. G., Miguel, M. D., & Miguel, O. G. (2009). Termoestabilidade de processos extrativos de *Nasturtium officinale* R. Br., brassicaceae por sistema soxhlet modificado. *Quimica Nova*, 32(4), 1031–1035. <http://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400034>
- Chang, C. C., YANG, M. H., WEN, H. M., & CHERN, J. C. (2002). 09.Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Wong, S. K., Lim, K. K., Tan, S. P., Lianto, F. S., & Yong, M. Y. (2009). Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food Chemistry*, 113(1), 166–172. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.090>

- Conceição, M. C., Junqueira, L. A., Guedes Silva, K. C., Prado, M. E. T., & De Resende, J. V. (2014). Thermal and microstructural stability of a powdered gum derived from *Pereskia aculeata* Miller leaves. *Food Hydrocolloids*, 40, 104–114. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.02.015>
- Embuscado, M. E. (2015). Spices and herbs: Natural sources of antioxidants - A mini review. *Journal of Functional Foods*, 18, 811–819. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.005>
- Finkel, T., & Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239–247. <http://doi.org/10.1038/35041687>
- Girgin, N., & El, S. N. (2015). Effects of cooking on in vitro sinigrin bioaccessibility, total phenols, antioxidant and antimutagenic activity of cauliflower (*Brassica oleraceae* L. var. Botrytis). *Journal of Food Composition and Analysis*, 37, 119–127. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.04.013>
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1147–1150. <http://doi.org/10.1042/BST0351147>
- Hussain, P. R., Suradkar, P., Javaid, S., Akram, H., & Parvez, S. (2016). Influence of postharvest gamma irradiation treatment on the content of bioactive compounds and antioxidant activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) and spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 33, 268–281. <http://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.11.017>
- Ji, L., Wu, J., Gao, W., Wei, J., Yang, J., & Guo, C. (2011). Antioxidant Capacity of Different Fractions of Vegetables and Correlation with the Contents of Ascorbic Acid, Phenolics, and Flavonoids. *Journal of Food Science*, 76(9), C1257–C1261. <http://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02402.x>
- Kumar, S. S., Manoj, P., & Giridhar, P. (2015). Nutrition facts and functional attributes of foliage of *Basella* spp. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 468–474. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.017>
- Lima Junior, F. A., Conceição, M. C., Vilela de Resende, J., Junqueira, L. A., Pereira, C. G., & Torres Prado, M. E. (2013). Response surface methodology for optimization of the mucilage extraction process from *Pereskia aculeata* Miller. *Food Hydrocolloids*, 33(1), 38–47. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.012>

- Merino, F. J. Z., Oliveira, V. B., Paula, C. S., Cansian, F. C., Souza, A. M., Zuchetto, M., M. D., Miguel, O. G. (2015). Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17(4), 1031–1040. http://doi.org/10.1590/1983-084X/14_137
- Minussi, R. C., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastore, G. M., & Durán, N. (2003). Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chemistry*, 82(3), 409–416. [http://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00590-3](http://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00590-3)
- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., Santos, T. C. dos, Coube, C. S., & Leitão, S. G. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, 15(2), 127–130. <http://doi.org/10.1002/ptr.687>
- Morais, S. M., Catunda, F. E. A., Da Silva, A. R. A., Neto, J. S. M., Rondina, D., & Leal Cardoso, J. H. (2006). Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. *Química Nova*, 29(5), 907–910. <http://doi.org/10.1590/S0100-40422006000500004>
- Murugan, R., Prabu, J., Chandran, R., Sajeesh, T., Iniyavan, M., & Parimelazhagan, T. (2015). Nutritional composition , in vitro antioxidant and anti-diabetic potentials of *Breynia retusa* (Dennst .) Alston. *Food Science and Human Wellness*, 5(1), 30–38. <http://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.12.001>
- Oliveira, D. D. C. D. S., Wobeto, C., Zanuzo, M. R., & Severgnini, C. (2013). Composição mineral e teor de ácido ascórbico nas folhas de quatro espécies olerícolas não-convencionais. *Horticultura Brasileira*, 31(3), 472–475. <http://doi.org/10.1590/S0102-05362013000300021>
- Paula, C. S., Canteli, V. C. D., Verdam, M. C. S., Kalegari, M., Campos, R., Hirota, B. C. K., ... Miguel, M. D. (2014). Atividade antioxidante e toxicidade preliminar do extrato e frações obtidas das folhas e cascas do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16(2), 189–195. <http://doi.org/10.1590/S1516-05722014000200004>

- Pinto, N. de C. C., dos Santos, R. C., Machado, D. C., Florêncio, J. R., Fagundes, E. M. de S., Antinarelli, L. M. R., ... Scio, E. (2012). Cytotoxic and antioxidant activity of *Pereskia aculeata* Miller. *Pharmacologyonline*, 3(September), 63–69.
- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337–341. <http://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>
- Reynertson, K. A., Basile, M. J., & Kennelly, E. J. (2005). Antioxidant Potential of Seven Myrtaceous Fruits. *Ethnobotany Research & Applications*, 3, 25–35.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). A guide to carotenoid analysis in foods. Washington DC: ILSI Press.
- Santi, M. M., Sanches, F. S., Silva, J. F. M., & Santos, P. M. L. (2014). Determinação do perfil fitoquímico de extrato com atividade antioxidante da espécie medicinal *Cordia verbenacea* DC. por HPLC-DAD. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 16(2), 256–261. <http://doi.org/10.1590/S1516-05722014000200014>
- Seong, G.-U., Hwang, I.-W., & Chung, S.-K. (2016). Antioxidant capacities and polyphenolics of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis*) leaves. *Food Chemistry*, 199, 612–618. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.066>
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Shettar, A. K., Kotresha, K., Kaliwal, B. B., & Vedamurthy, A. B. (2015). Evaluation of in vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of *Ximenia americana* extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(11), 918–923. [http://doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)60957-4](http://doi.org/10.1016/S2222-1808(15)60957-4)
- Sousa, R. M. F., Lira, C. S., Rodrigues, A. O., Morais, S. A. L., Queiroz, C. R. A. A., Chang, R., de Oliveira, A. (2014). Antioxidant activity of *ora-pro-nobis* (*Pereskia aculeata* Mill.) leaves extracts using spectrophotometric and voltammetric assays. *Bioscience Journal*, 30(3 SUPPL. 1), 448–457.

- Stephens, J. W., Khanolkar, M. P., & Bain, S. C. (2009). The biological relevance and measurement of plasma markers of oxidative stress in diabetes and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 202(2), 321–329. <http://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.06.006>
- Takeiti, C. Y., Antonio, G. C., Motta, E. M. P., Collares-Queiroz, F. P., & Park, K. J. (2009). Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 Suppl 1(August), 148–160. <http://doi.org/10.1080/09637480802534509>
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int.J.Biochem.Cell Biol.*, 39(1357-2725 (Print)), 44–84. <http://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Zehring, J., Reim, V., Schröter, D., Neugart, S., Schreiner, M., Rohn, S., & Maul, R. (2015). Identification of novel saponins in vegetable amaranth and characterization of their hemolytic activity. *Food Research International*, 78, 361–368. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.010>

5. ARTIGO 3 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TEOR DE CAROTENOIDES DOS FRUTOS DA ESPÉCIE *Pereskia aculeata* Mill EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

“Physicochemical characterization and levels of carotenoids of *Pereskia aculeata* Mill fruits at different ripeness stages.”

⁵ Bruna Isadora Trennepohl ^a, Cristiane Fagundes ^a, Ana Paula Peters ^b, Maurício Passos ^c, Marlene Bampi ^a, Sila Mary Rodrigues Ferreira ^d, Obdúlio Gomes Miguel ^e.

^{5 a} Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-graduação em Alimentação e Nutrição. Campus III. Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico. 80.210-170. Curitiba, Paraná, Brasil

^b Universidade Federal do Paraná. Curso de Graduação em Nutrição. Campus III. Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico. 80.210-170. Curitiba, Paraná, Brasil.

^c Universidade Federal do Paraná. Departamento de Farmácia. Campus III, Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico. 80.210-170.

^d Universidade Federal do Paraná. Departamento de Nutrição. Programa de Pós-graduação em Alimentação e Nutrição. Campus III. Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico. 80.210-170. Curitiba, Paraná, Brasil.

^e Universidade Federal do Paraná. Departamento de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição. Campus III. Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico. 80.210-170.

Resumo

A ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill) é uma espécie nativa da flora brasileira, sendo suas folhas comumente usadas em algumas regiões do Brasil. O objetivo desse estudo foi realizar a caracterização físico-química e quantificar o teor de ácidos orgânicos, açúcares e de carotenoides dos frutos da espécie em três diferentes estádios de maturação. Os frutos foram colhidos em Curitiba, Paraná, Brasil, higienizados e classificados de acordo com o estágio de maturação: verde, intermediário (estádio de transição) e maduro. Os valores de pH e sólidos solúveis totais apresentaram aumento significativo durante a maturação, enquanto as fibras alimentares diminuíram significativamente. A umidade, cinzas, proteína total e lipídios variaram com o amadurecimento dos frutos. Os teores de glicose, frutose, sacarose aumentaram significativamente durante o amadurecimento, sendo que a sacarose apresentou maior concentração no fruto maduro. Os ácidos cítrico e málico diminuíram com a maturação. Ocorreu um aumento significativo dos valores de β -caroteno e licopeno do fruto maduro em relação ao intermediário e verde. Os resultados indicam que o fruto pode ser incluído no hábito alimentar, além de ser uma alternativa de renda aos produtores agrícolas familiares.

Palavras-chave: Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill); caracterização físico-química; maturação; açúcares; ácidos orgânicos; CLAE; carotenoides; β -caroteno; licopeno.

1. Introdução

O Brasil conta com alguns dos biomas mais ricos do planeta em número de espécies vegetais, sendo eles a Amazônia, a Mata Atlântica e o Cerrado, com uma grande e diversa flora (Rodrigues et al., 2013). Mesmo com essa riqueza e o potencial que ela representa, a biodiversidade brasileira é ainda pouco explorada e sua utilização tem sido negligenciada. A maior parte das atividades agrícolas está, ainda, baseada em espécies exóticas, desvalorizando os alimentos regionais presentes na biodiversidade de cada região.

A espécie *Pereskia aculeata* Mill, cujas folhas são classificadas como hortaliça não-convencional e popularmente conhecida como ora-pro-nobis (OPN), desperta um grande interesse pelo seu valor nutricional e potencial industrial (Rocha et al., 2008; Takeiti et al., 2009; Pinto et al., 2012). Sua incidência no Brasil ocorre dos estados da Bahia ao Rio Grande do Sul, sendo, no Paraná, encontrada na Floresta Estacional Semidecidual, que pertence ao bioma da Mata Atlântica (Takeiti et al., 2009; Soller et al., 2014). O alto conteúdo proteico e de mucilagens, e a ausência de toxicidade das folhas, a tornam uma boa opção na alimentação humana em preparações como farinhas, refogados, saladas, sopas e tortas (Takeiti et al., 2009; Almeida et al., 2014).

A OPN é uma planta originária dos trópicos, nativa da flora brasileira, com características de trepadeira, podendo atingir até dez metros de altura. Apresenta caule fino, ramos longos, com poucos e pequenos espinhos. Em seus ramos, se inserem folhas largas e suculentas, podendo surgir no seu final flores terminais (Duarte; Hayashi, 2005; Tofanelli, Resende, 2011). De suas flores provém os frutos que, quando maduros, são carnosos e adquirem cor amarelo-alaranjada, com presença de acúleo e pelos (Rosa; Souza, 2003). Os frutos do OPN, denominados comumente de groselha-da-América, groselha-das-antilhas e groselha-de-barbados, têm safra entre os meses de junho e julho (Agostini-Costa et al., 2012). São consumidos *in natura*, ou processados na forma de geleias e em sucos, porém, devido à presença de acúleos em sua superfície, seu manuseio e processamento é pouco conhecido. Os frutos da OPN podem apresentar compostos importantes em sua composição, entre eles

carotenoides e polifenóis totais, como relatados por Agostini-Costa, et al. (2012) e Agostini-Costa et al. (2014).

O clima tropical do Brasil é favorável à ocorrência de uma grande variedade de frutos carotenogênicos. Agostini-Costa et al. (2014) encontraram níveis classificados como muito elevados de β -caroteno e α -caroteno nos frutos de OPN, sendo encontrado melhores índices nos frutos maiores e mais alaranjados. Estudos epidemiológicos demonstram que o consumo de dietas ricas em carotenóides está associada com baixa incidência de doenças cardiovasculares, câncer, degeneração macular associada à idade e desenvolvimento de catarata (Meyers et al., 2014; Sharoni et al., 2012).

Mesmo que o seu consumo esteja presente no hábito alimentar das regiões onde é encontrada, até o presente momento a literatura dispõe de poucos dados sobre a composição físico-química dos frutos da OPN. A maioria das plantas não-convencionais é desconhecida, e um reduzido número delas apresenta comprovação científica de suas propriedades. O resgate e a valorização dessas culturas tradicionais são muito importantes do ponto de vista cultural, econômico, social e nutricional, e é fundamental para que se evite o processo de extinção, não apenas da planta, mas de toda a tradição, cultura e herança de seu cultivo e consumo (Brasil, 2010). O objetivo deste estudo foi realizar a caracterização físico-química e quantificar o teor de ácidos orgânicos, açúcares e de carotenoides dos frutos da OPN.

2. Material e métodos

2.1 *Processamento da amostra*

As amostras dos frutos de OPN em três estádios de maturação foram coletadas de uma planta (25°25'49,3"S 49°15'27,5"W) na cidade de Curitiba – PR. A identificação da espécie vegetal foi realizada no Museu Botânico Municipal (MBM) de Curitiba–PR, onde está depositada a exsicata MBM 341967 (ANEXO 1). A pesquisa foi autorizada por meio do processo 010004/2015-7, pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), o qual é credenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/MMA), a acessar e remeter componente do Patrimônio Genético (ANEXO 2). Os frutos coletados foram higienizados e

classificados em relação aos estádios de maturação, sendo considerados verdes os frutos totalmente verdes e desenvolvidos, intermediário os frutos em estado intermediário de maturação, apresentando coloração amarela e verde, e maduros os frutos com coloração mínima 75% laranja, como ilustra a Figura 6. Foram removidas manualmente partes como pedúnculo, galhos, acúleos e folhas, e em seguida, realizada a separação da polpa das sementes. As análises de umidade, pH, cinzas e sólidos solúveis foram realizadas com a polpa *in natura*. O restante da polpa foi envasado e congelado a aproximadamente -21°C até o momento das análises de carotenoides, ácidos orgânicos e açúcares. Para as análises de determinação de proteína total, lipídios totais e fibras alimentares foram utilizados a polpa liofilizada em liofilizador Liobras® L101 a -45°C. Todas as análises foram realizadas em triplicata.



Fig. 6. Frutos da OPN nos diferentes estádios de maturação, verde (OV), intermediário (OI) e maduro (OM).

2.2 Caracterização química

A umidade foi determinada por secagem direta em estufa a 105°C até peso constante, de acordo com a metodologia nº 925.09 (AOAC, 2000). Os níveis de pH foram aferidos em pHmetro MS Tecnocon, Brasil, conforme metodologia nº 942.15 (AOAC, 2000). As cinzas seguiram a metodologia nº 920.153 (AOAC, 2000). O teor de sólidos solúveis totais (SST) foi determinado

a partir dos sucos das amostras diluídas em 100mL de água destilada e filtradas em refratômetro digital (RTD 95 – Instrutherm, Brasil). Os resultados foram expressos em °Brix. A proteína total foi determinada pela digestão de Kjeldahl, com fator de conversão de N=6,25, seguindo metodologia nº 991.20 (AOAC, 2000). A determinação dos lipídios foi realizada pela extração com éter de petróleo pelo método Soxhlet, de acordo com a metodologia nº 920.39.C (AOAC, 2000) e a fibra alimentar total (TDF) conforme método nº 985.29 da AOAC (2000), utilizando reagentes SIGMA TDF-100A Kit – Total Dietary Fiber Assay Kit. Os carboidratos foram determinados pela diferença, em matéria seca, entre cem e o teor de proteínas, lipídeos, cinzas, fibras alimentares totais e umidade. O valor energético total (VET) foi estimado usando os valores de conversão de 4kcal/g para proteínas e carboidratos, e 9kcal/g para lipídios (Osbone & Voogt, 1978).

2.3 Determinação de ácidos orgânicos e açúcares por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A análise de ácidos orgânicos e açúcares nos estádios verde, intermediário e maduro foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em equipamento Varian Star modelo 350 composto por bomba binária, injetor automático e detector de índice de refração (DIR). Para a separação cromatográfica foi utilizada uma coluna Rezex ROA Phenomenex (300 x 7.8 mm), fase móvel H₂SO₄ 8mM, fluxo de 0,5 mL/min por 30 minutos, volume de injeção de amostra de 20µL e temperatura do DIR a 40°C.

O suco das amostras foi obtido a partir da prensagem manual dos frutos. Para a análise dos açúcares sacarose, glicose e frutose, uma alíquota de 1g do suco da fruta foi diluída 1:40 (v/v) em fase móvel, centrifugada em centrífuga Minispin Plus Eppendorff a 12000rpm por 5 minutos e injetado no cromatógrafo. Os padrões foram obtidos da Sigma-Aldrich (USA).

Na análise dos ácidos orgânicos foi realizado um pré-tratamento utilizando cartuchos de extração em estado sólido Strata® Sax (55um, 70A) 500mg/3mL (Phenomenex), a fim de separar os ácidos orgânicos de compostos neutros. Primeiro os cartuchos foram condicionados com 3mL de metanol seguidos de 3mL de água destilada. Na sequência, foi inserido 0,5mL da amostra de suco com o pH previamente ajustado entre 7-9 com NaOH 1N.

A eluição dos compostos neutros foi efetuada utilizando duas vezes 1mL de água destilada neutralizada a pH 7 com NaOH 1N. Após, os ácidos foram eluídos com a aplicação de 0,5mL de HCl 1N por 5 vezes (Chinnici et al, 2005). As frações de 2,5mL contendo os ácidos foram congeladas e liofilizadas. A quantificação dos ácidos orgânicos foi realizada por curva de padronização externa com 5 pontos para cada ácido orgânico (oxálico, cítrico, tartárico, málico e succínico). Os padrões foram obtidos da Sigma-Aldrich (USA). As amostras liofilizadas foram diluídas com fase móvel e centrifugadas em centrífuga Minispin Plus Eppendorf® a 12000 rpm durante 5 minutos. A identificação dos ácidos orgânicos e dos açúcares nas amostras de frutas foi efetuada pela comparação do seu tempo de retenção com o do respectivo padrão, e os resultados expressos em mg/g (Macrae, 1998).

2.4 Teor de carotenoides

O teor de carotenoides foi determinado de acordo com Rodriguez-Amaya (2001). O processo de extração dos carotenoides foi realizado com a mistura de 2,5g dos frutos (verde, intermediário e maduro) *in natura* em 20mL de acetona. Os extratos foram filtrados sob vácuo e transferidos para tubos de centrífuga, onde foram adicionados éter de petróleo e água destilada deionizada. Após a centrifugação (3000 rpm por 10 minutos – centrífuga Sigma, modelo 4K15), apenas o sobrenadante foi utilizado para realizar a leitura em espectrofotômetro (Gold S53 UV-Vis, Ningbo Biotek) a 450nm para determinação de β -caroteno e a 470nm para determinação de licopeno, usando o valor de 2592 para coeficiente de extinção do β -caroteno, e de 3450 para o licopeno. A partir do resultado do β -caroteno, foi calculada a vitamina A, de acordo com a seguinte equação: $\text{vitamina A} = (\beta\text{-caroteno mg}/0,0006 * \beta\text{-caroteno mg}) * 100$ (AOAC, 2000).

2.5 Análise estatística

Para a análise estatística dos resultados foi utilizado o software Statistical Analysis System (SAS, versão 9). Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão (DP) e submetidos à análise de variância (ANOVA) com 95% de nível de probabilidade. Para comparação de médias foi empregado o teste de Tukey, com nível de significância fixado em $p \leq 0,05$. Por meio da

Correlação de Pearson (r) foi medido o grau de dependência estatística entre as variáveis, que podem variar de -1 a 1, onde o sinal indica a direção positiva ou negativa dessa dependência. A força da relação entre as variáveis foi classificada de acordo com Dancey e Reidy (2005).

3. Resultados e discussão

3.1 Caracterização química

Os resultados da caracterização nutricional dos frutos, nos três estádios de maturação, são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7

Caracterização físico-química dos frutos da espécie *Pereskia aculeata* Mill em diferentes estádios de maturação.

Análise \ Resultado	OV	OI	OM
Umidade (%)	91.94 \pm 0.07 ^b	92.97 \pm 0.10 ^a	92.50 \pm 0.47 ^{a,b}
pH	3.03 \pm 0.02 ^b	3.06 \pm 0.005 ^b	3.15 \pm 0.03 ^a
Cinzas (%)	0.56 \pm 0.01 ^a	0.50 \pm 0.010 ^a	0.55 \pm 0.03 ^a
SST (°Brix)	3.90 \pm 0.00 ^a	4.46 \pm 0.20 ^b	5.63 \pm 0,1 ^c
Proteína total (g/100g)*	10.45 \pm 0.10 ^a	10.00 \pm 0.10 ^b	10.50 \pm 0.04 ^a
Lipídios (g/100g)*	1.35 \pm 0.14 ^a	1.09 \pm 0.10 ^a	1.18 \pm 0.06 ^a
FAT (g/100g)*	53.20 \pm 1.80 ^a	38.50 \pm 1.20 ^b	31.50 \pm 0.14 ^c
Carboidratos (g/100g)	26.40 \pm 1.70 ^a	42.80 \pm 0.50 ^b	48.70 \pm 0.5 ^c
VET (Kcal)	159.50 \pm 7.00 ^a	221.30 \pm 0.40 ^b	247.50 \pm 2.6 ^c

OV: ora-pro-nóbis verde; OI: ora-pro-nóbis intermediário; OM: ora-pro-nóbis maduro; FAT: fibra alimentar total; VET: valor energético total. * Valores referentes a g/100g do fruto liofilizado triturada. Os resultados representam a média de três determinações e o desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não apresentaram diferença estatística significativa.

O teor de umidade variou com a maturação do fruto, apresentando diferença significativa apenas entre os estádios verde e intermediário ($p \leq 0,05$). Mesmo não significativa, houve uma perda de umidade dos frutos do estágio intermediário para o maduro, que pode estar relacionada com o processo de respiração do fruto. Valores semelhantes foram encontrados por Mercali et al. (2011), ao determinar as propriedades físicas da acerola. Durante o amadurecimento do fruto, houve um aumento significativo ($p \leq 0,05$) dos valores

de pH observado no estágio maduro em relação aos estádios verde e intermediário. Os valores encontrados do pH destacam a característica ácida dos frutos, mesmo no fruto maduro. A mesma variação também foi relatada por Chen et al. (2016), ao investigar os processos metabólicos de bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.), fruto tropical nativo da China e de países asiáticos. O aumento do pH no estágio maduro está correlacionado com a diminuição dos ácidos, como pode ser verificado pela correlação de Pearson na Tabela 8. A diminuição dos ácidos pode ser atribuída à oxidação dos ácidos orgânicos utilizados na respiração da planta durante a maturação, o qual é mais intenso no início do amadurecimento dos frutos (Rutz et al., 2012).

Tabela 8

Correlação de Pearson (r) das análises realizadas do fruto maduro.

	pH	FAT	β-carot	Lic	Glic	Frut	Sac	Ác má	Ác cí
pH	1	-0,837	0,7196	0,7710	0,7920	0,7201	0,9132	-0,750	-0,719
FAT		1	-0,708	-0,769	-0,992	-0,980	-0,961	0,9835	0,7308
β-carot			1	0,9944	0,7259	*	0,8036	*	*
Lic				1	0,7840	0,7206	0,8603	*	*
Glic					1	0,9915	0,9568	-0,983	-0,677
Frut						1	0,9114	-0,991	-0,673
Sac							1	-0,910	-0,669
Ác má								1	0,7623
Ác cí									1

FAT: fibra alimentar total; β-carot: β-caroteno; Lic: licopeno; Glic: glicose; Frut: frutose; Sac: sacarose; Ác má: ácido málico; Ác cí: ácido cítrico.* Valores com $p > 0,05$.

O conteúdo de cinzas encontrado variou durante o processo de maturação dos frutos, não apresentando diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os três estádios. Os valores de cinzas do presente estudo são superiores aos encontrados por Souza et al. (2014), ao estudar amora-preta, framboesa vermelha, morango e mirtilo, e semelhantes ao encontrado para cereja ($0,42 \pm 0,01$), indicando que os frutos da OPN podem apresentar aporte importante de minerais. Valores encontrados no açaí diminuíram com a maturação, sendo 14g/100g de matéria seca no estágio verde e 4g/100g de matéria seca no estágio maduro (Gordon et al., 2012). Os teores de SST apresentaram um

aumento significativo ($p \leq 0,05$) com a maturação. O aumento contínuo dos teores de SST com o amadurecimento do fruto tem correlação com a hidrólise do amido, presente no fruto verde, em açúcares simples durante o avanço da maturação (Zheng et al., 2012). No entanto, mesmo havendo um aumento, o valor de SST do fruto maduro não pode caracterizá-lo como adocicado (Fawole et al., 2013). Um comportamento semelhante foi verificado por Velde et al. (2016) ao avaliar SST de amora silvestre.

Os valores encontrados para os lipídios variaram durante o processo de maturação, não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) entre os três estádios. O conteúdo de lipídeos do OPN diferiu do encontrado no açaí, fruto tropical brasileiro, o qual aumentou com a maturação (7g/100g no fruto verde, 31g/100g no intermediário e 48g/100g no fruto maduro, todos expressos em amostra seca), sendo associado a alterações no sabor e na textura dos frutos (Gordon et al., 2013). Os parâmetros de proteínas apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) apenas entre os estádios verde e intermediário. Os frutos do OPN se destacaram pelo elevado teor de proteína, em média 10,5g/100g do fruto seco. O valor foi similar ao encontrado em doze variedades de tomate cereja, que variaram de 8,27 – 14,2 g/100g de amostra seca (Choi et al., 2014).

A quantidade de fibra alimentar total (FAT) reduziu significativamente ($p \leq 0,05$) com a maturação do fruto. Como o amido encontrado no fruto verde não é digerido, sendo considerado pela análise como fibra, sua degradação com a maturação gera o decréscimo nesse teor. Porém, mesmo diminuindo com a maturação, o valor de FAT registrado nos frutos maduros é relevante. Com a diminuição dos valores de fibras alimentares no estágio maduro, houve um aumento significativo ($p \leq 0,05$) no aporte de carboidratos devido a degradação das fibras em açúcares simples durante o amadurecimento, e, consequentemente, do valor energético total. Observou-se uma forte correlação inversamente proporcional das fibras alimentares em relação aos carotenoides β -caroteno e licopeno (Tabela 8).

A mesma metodologia para análise de FAT foi empregada por Moo-Huchin et al. (2014) ao avaliar frutos tropicais do México, como o caju vermelho (*Anacardium occidentale*) e o *Chrysophyllum cainito* L. verde e roxo (popularmente conhecido como caimito ou abiu) encontrando teores de 28,26, 30,78 e 35,68g/100g de amostra seca, respectivamente. Esses valores de FAT

são semelhantes aos encontrados na OPN no estágio maduro (31,5g/100g de amostra seca).

No geral, a composição centesimal dos frutos do OPN apresentou valores semelhantes a frutos pequenos, como berries e outros frutos nativos brasileiros. Entretanto, algumas condições, como clima, solo, exposição solar e outras condições podem afetar significativamente a composição dos frutos e justificar as diferenças.

3.2 Determinação de ácido orgânicos e açúcares

Os gráficos dos teores ácidos orgânicos (cítrico e málico) e açúcares (frutose, glicose e sacarose) dos frutos são apresentados na Figura 6. Nos resultados das análises de ácidos orgânicos foi identificada a presença do ácido cítrico e do málico. De acordo com a correlação de Pearson (Tabela 6), houve uma forte correlação inversamente proporcional dos ácidos cítrico e málico aos valores de pH, glicose, frutose e sacarose. O ácido málico diminuiu significativamente ($p \leq 0,05$) com a maturação do fruto, assim como o ácido cítrico, porém esse não de forma significativa ($p > 0,05$). A diminuição do teor de ácidos no decorrer da maturação ocorre devido ao seu consumo como substrato no processo respiratório, ou na conversão em açúcares (Matarazzo et al., 2013). Comportamento similar foi encontrado por Zhao et al. (2015), quando compararam as mudanças em ácidos e açúcares orgânicos de *Lycium barbarum* L. (wolfberry) em cinco estádios de maturação, e por Ornelas-Paz et al. (2013), ao avaliar a composição química de morangos (*Fragaria x ananassa*) orgânicos em cinco estádios de maturação.

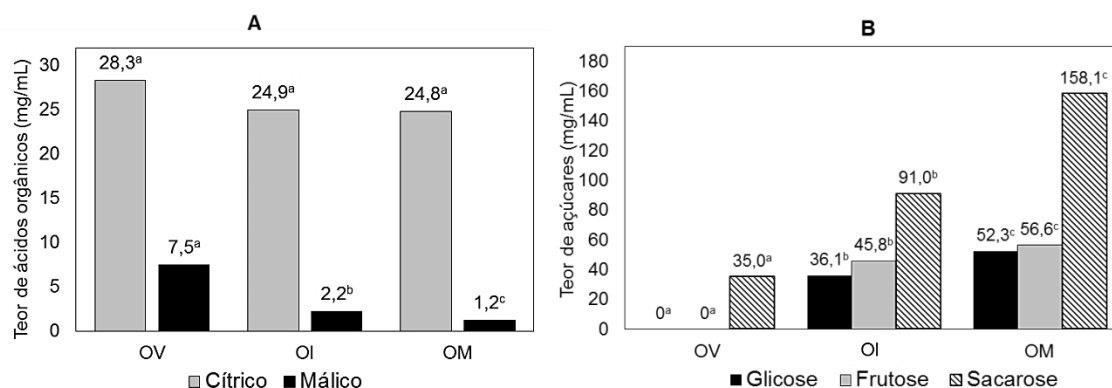


Fig. 7. Teores de ácidos orgânicos (A) e açúcares (B) dos frutos de OPN nos três estádios de maturação. OV: ora-pro-nóbis verde; OI: ora-pro-nóbis intermediário; OM: ora-pro-nóbis maduro. Os resultados representam a média de três determinações.

Em relação às análises de açúcares, observou-se um aumento significativo ($p \leq 0,05$) dos teores de frutose, glicose e sacarose com o amadurecimento do fruto. Houve uma forte correlação inversamente proporcional dos açúcares glicose, frutose e sacarose em relação às fibras (Tabela 8), já que esses açúcares, inicialmente apresentados na forma de carboidratos complexos, com a maturação se degradam em carboidratos simples. A concentração de sacarose foi maior do que a dos outros açúcares avaliados em todos os estádios de maturação, sendo o açúcar mais presente no fruto maduro, seguido da frutose e da glicose.

3.3 Teor de carotenoides

O gráfico dos teores de carotenoides dos frutos da OPN está apresentado na Figura 8. Houve um aumento significativo ($p \leq 0,05$) dos valores de β -caroteno e licopeno do fruto maduro em relação ao intermediário e verde. Observou-se uma forte correlação diretamente proporcional do β -caroteno em relação à glicose e sacarose, do licopeno em relação à glicose, frutose e sacarose, e estes em relação ao pH (Tabela 6). O OPN maduro apresentou altos níveis de β -caroteno e licopeno de acordo com os valores de referência sugeridos por Britton e Khachik (2009). Os valores são classificados como baixos ($<1 \mu\text{g/g}$), moderado ($1-5 \mu\text{g/g}$), alto ($5-20 \mu\text{g/g}$) e muito alto ($>20 \mu\text{g/g}$).

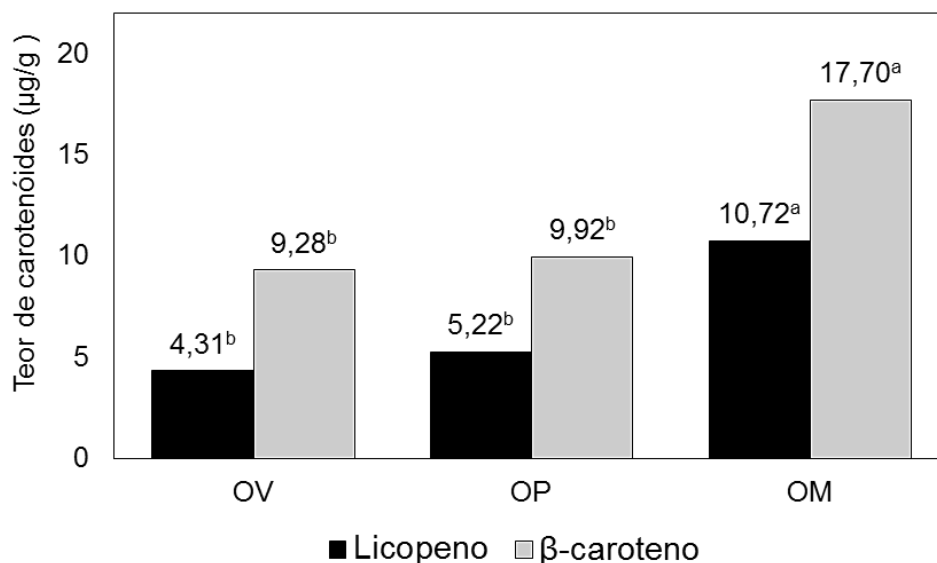


Fig. 8. Teor de carotenoides nos frutos da OPN na maturação. OV: ora-pro-nóbis verde; OI: ora-pro-nóbis intermediário; OM: ora-pro-nóbis maduro. Os resultados representam a média de três determinações.

Em estudo sobre compostos bioativos e capacidade antioxidante de frutos nativos brasileiros, Denardin et al. (2015) avaliaram amostras de butiá, araçá, pitanga e amora-silvestre, onde os teores de β -caroteno variou de 0,87-6,27 $\mu\text{g/g}$ quando maduros, sendo os maiores índices registrados para o araçá e a pitanga vermelha. Esses valores são inferiores aos encontrados nas amostras de *P. aculeata* (17,7 $\mu\text{g/g}$ no estágio maduro). O β -caroteno é o pigmento predominante na maioria dos frutos tropicais. Agostini-Costa et al. (2014) em seu estudo sobre o perfil de carotenoides dos frutos completamente maduros do OPN colhidos em cinco locais diferentes, registraram que os frutos maiores, mais alaranjados e com melhor aparência apresentaram melhores índices de α - e β -caroteno, e, conseqüentemente, alto índice pró vitamina A. Os valores de β -caroteno encontrados no estudo citado (7,29 - 41,1 $\mu\text{g/g}$) foram superiores ao encontrado no presente estudo. A composição de carotenoides pode ser influenciada por fatores externos, como clima, tipo de solo, condições de crescimento e região geográfica (Denardin et al., 2015; Saini et al., 2015).

Nos tecidos vegetais, os carotenoides, principalmente o β -caroteno, são precursores da vitamina A (pró vitamina A). A partir dos resultados do teor de β -caroteno, a quantidade de vitamina A encontrada pela equação foi de aproximadamente 166,6 μg (ou RE – Equivalente de Retinol) nos três estádios

de maturação, o que proporciona mais de 50% da recomendação diária média estimada de 300 µg RE/dia para adultos (Fao & Who 2002). Os resultados encontrados por Agostini-Costa et al., (2012) foram de 401 RE/100g de pró vitamina A no fruto do OPN maduro.

Os teores de licopeno também são relevantes. Em estudo sobre a composição de carotenoides de frutos cítricos, o valor de licopeno encontrado foi inferior ao do OPN (0,1 – 0,7 µg/g entre os três estádios de maturação nos frutos cítricos contra 4,31 – 10,72 µg/g na *P. aculeata*). O licopeno é considerado o carotenoide mais antioxidante, porém bloqueia a atividade da vitamina A. Sua potencial atividade antioxidante é geralmente associada à proteção do sistema celular de várias espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN), e ainda ajuda na prevenção de risco de doenças cardiovasculares em humanos (Müller et al., 2015).

4. Conclusão

As análises de caracterização físico-química revelaram que os frutos da ora-pro-nobis durante a maturação apresentam aumento significativo dos valores de pH, sólidos solúveis totais, glicose, frutose, sacarose, β-caroteno e licopeno, e redução significativa nos valores de fibras alimentares e ácidos cítrico e málico. O elevado conteúdo de proteínas do fruto seco analisado pode contribuir para o fornecimento proteico da dieta, e destacam a necessidade de avaliar sua qualidade nutricional. O fruto maduro apresenta um alto teor de carotenoides, destacando o potencial antioxidante da OPN. O conhecimento sobre a composição de carotenoides nos frutos é útil para a seleção de novas fontes que possam ser utilizadas para fortificar alimentos/preparações e suprir as recomendações dietéticas. Os resultados indicam que o fruto pode ser incluído no hábito alimentar, além de ser uma alternativa de renda aos produtores agrícolas familiares.

Agradecimento

Os autores gostariam de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro.

Referências

- Agostini-Costa, T. S., Pêsoa, G. K. A., Silva, D. B., Gomes, I. S., & Silva, J. P. (2014). Carotenoid composition of berries and leaves from a Cactaceae - *Pereskia* sp. *Journal of Functional Foods*, 11(C), 178–184. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2014.09.015>
- Agostini-Costa, T. da S., Wondracek, D. C., Rocha, W. da S., & Silva, D. B. da. (2012). Carotenoids profile and total polyphenols in fruits of *Pereskia aculeata* Miller. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(1), 234–238. <http://doi.org/10.1590/S0100-29452012000100031>
- Almeida, M. L., Freitas, W. E., Moraes, P. L., Sarmiento, J. D., & Alves, R. E. (2016). Bioactive compounds and antioxidant potential fruit of *Ximenia americana* L. *Food Chem*, 192(January), 1078–1082. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.129>
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. In W. Horwitz (Ed.), AOAC International, Office of the Federal Register, U.S. Government, Washington, D.C. 2000.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Hortaliças não-convencionais : (tradicionais) / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. – Brasília : MAPA/ACS, 2010.
- Britton, G., & Khachik, F. (2009). Carotenoids in foods. In G. Britton, S. Liaaen-Jensen, & H. E. Pfander (Eds.), *Carotenoids* (Vol. 5, pp. 45–66). Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser.
- Chen, Y. Y., Zhang, Z. H., Zhong, C. Y., Song, X. M., Lin, Q. H., Huang, C. M., Chen, W. (2016). Functional analysis of differentially expressed proteins in Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) fruits during ripening. *Food Chemistry*, 190, 763–770. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.023>
- Chinnici, F., Spinabelli, U., Riponi, C., Amati, A. (2005). Optimization of the determination of organic acids and sugars in fruit juices by ion-exclusion liquid chromatography. *Journal Of Food Composition And Analysis*, 18, 121-130. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.01.005>

- Choi, S. H., Kim, D. S., Kozukue, N., Kim, H. J., Nishitani, Y., Mizuno, M., ... Friedman, M. (2014). Protein, free amino acid, phenolic, β -carotene, and lycopene content, and antioxidative and cancer cell inhibitory effects of 12 greenhouse-grown commercial cherry tomato varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 34(2), 115–127. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.03.005>
- Denardin, C. C., Hirsch, G. E., Da Rocha, R. F., Vizzotto, M., Henriques, A. T., Moreira, J. C. F., ... Emanuelli, T. (2015). Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(3), 387–398. <http://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.01.006>
- Duarte, M. R., & Hayashi, S. S. (2005). Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 15(2), 103–109. <http://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000200006>
- FAO, & WHO. (2001). Human Vitamin and Mineral Requirements. Human Vitamin and Mineral Requirements, 303.
- Fawole, O. A., & Opara, U. L. (2013). Changes in physical properties, chemical and elemental composition and antioxidant capacity of pomegranate (cv. Ruby) fruit at five maturity stages. *Scientia Horticulturae*, 150, 37–46. <http://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.10.026>
- Gordon, A., Cruz, A. P. G., Cabral, L. M. C., De Freitas, S. C., Taxi, C. M. A. D., Donangelo, C. M., ... Marx, F. (2012). Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of açaí fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. *Food Chemistry*, 133(2), 256–263. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.150>
- Li, W. Q., Hu, Q. P., & Xu, J. G. (2015). Changes in physicochemical characteristics and free amino acids of hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) fruits during maturation. *Food Chemistry*, 175, 50–56. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.125>
- Macrae, R. (1998) HPLC: food analyses. London, Academic Press, p. 77.
- Matarazzo, P. H. M., Lopes, D., Siqueira, D., Carlos, L., Salomao, C., ... Cecon, P. R. (2013). DESENVOLVIMENTO DOS FRUTOS DE LULO (*Solanum quitoense* LAM), EM VIÇOSA-MG 1. *Rev. Bras. Frutic*, 35(1), 131–142. <http://doi.org/10.1590/S0100-29452013000100016>

- Meyers, K. J., Mares, J. a, Igo, R. P., Truitt, B., Liu, Z., Millen, A. E., ... Iyengar, S. K. (2014). Genetic evidence for role of carotenoids in age-related macular degeneration in the Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study (CAREDS). *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 55(1), 587–99. <http://doi.org/10.1167/iov.13-13216>
- Mercali, G. D., Sarkis, J. R., Jaeschke, D. P., Tessaro, I. C., & Marczak, L. D. F. (2011). Physical properties of acerola and blueberry pulps. *Journal of Food Engineering*, 106(4), 283–289. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.05.010>
- Moo-Huchin, V. M., Estrada-Mota, I., Estrada-León, R., Cuevas-Glory, L., Ortiz-Vázquez, E., De Lourdes Vargas Y Vargas, M., ... Sauri-Duch, E. (2014). Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 152, 508–515. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.013>
- Müller, L., Caris-Veyrat, C., Lowe, G., Böhm, V. (2016). Lycopene and Its Antioxidant Role in the Prevention of Cardiovascular Diseases-A Critical Review. *Crit Rev Food Sci Nutri*, 56(11), 1868-79. <http://doi.org/10.1080/10408398.2013.801827>.
- Ornelas-Paz, J. D. J., Yahia, E. M., Ramírez-Bustamante, N., Pérez-Martínez, J. D., Escalante-Minakata, M. D. P., Ibarra-Junquera, V., ... Ochoa-Reyes, E. (2013). Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch, Cv. Albion) at six stages of ripening. *Food Chemistry*, 138(1), 372–381. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.006>
- Osborne, D. R., Voogt, P. (1978) *The analysis of nutrient in foods*. A. Press, Ed.
- Pinto, N. de C. C., dos Santos, R. C., Machado, D. C., Florêncio, J. R., Fagundes, E. M. de S., Antinarelli, L. M. R., ... Scio, E. (2012). Cytotoxic and antioxidant activity of *Pereskia aculeata* Miller. *Pharmacologyonline*, 3(September), 63–69.
- Rocha, D. R. C., Júnior, G. A. P., Vieira, G., Pantoja, L., Santos, A. S., & Pinto, A. V. D. (2008). Macarrão Adicionado De Ora-Pro-Nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) Desidratado, 459–465.

- Rodrigues, E., Mariutti, L. R. B., & Mercadante, A. Z. (2013). Carotenoids and phenolic compounds from *Solanum sessiliflorum*, an unexploited amazonian fruit, and their scavenging capacities against reactive oxygen and nitrogen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(12), 3022–3029. <http://doi.org/10.1021/jf3054214>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). A guide to carotenoid analysis in foods. Washington DC: ILSI Press.
- Rutz, J. K. (2012). Influence of the Degree of Maturation on the Bioactive Compounds in Blackberry (*Rubus* spp.) cv. Tupy. *Food and Nutrition Sciences*, 03(10), 1453–1460. <http://doi.org/10.4236/>
- Saini, R. K., Nile, S. H., & Park, S. W. (2015). Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Research International*, 76, 735–750. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.047>
- Sharoni, Y., Linnewiel-Hermoni, K., Khanin, M., Salman, H., Veprik, A., Danilenko, M., & Levy, J. (2012). Carotenoids and apocarotenoids in cellular signaling related to cancer: A review. *Molecular Nutrition and Food Research*, 56(2), 259–269. <http://doi.org/10.1002/mnfr.201100311>
- Soller, A., Soffiatti, P., Cavalcante, A. & Goldenberg, R. (2014). Cactaceae no estado do Paraná, Brasil. Resumo Este trabalho apresenta o estudo taxonômico de Cactaceae no estado do Paraná. A metodologia inclui a análise de coleções de herbário e realização de coletas em todos os biomas do estado. Doze gêneros e 26 Ab, 65(1), 201–219.
- Rosa, S. M., & Souza, L. A. (2003). Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). *Acta Scientiarum - Biological Sciences*, 25(2), 415–428. <http://doi.org/10.4025/actascibiols.v25i2.2046>
- Souza, V. R., Pereira, P. A. P., Da Silva, T. L. T., De Oliveira Lima, L. C., Pio, R., & Queiroz, F. (2014). Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*, 156, 362–368. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.125>
- Takeiti, C. Y., Antonio, G. C., Motta, E. M. P., Collares-Queiroz, F. P., & Park, K. J. (2009). Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable

- (*Pereskia aculeata* Miller). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 Suppl 1(August), 148–160.
<http://doi.org/10.1080/09637480802534509>
- Tofanelli, M. B. D., & Resende, S. G. (2011). SISTEMAS DE CONDUÇÃO NA PRODUÇÃO DE FOLHAS DE *Ora-pro-nobis*. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 41(3), 466–469. <http://doi.org/10.5216/pat.v41i3.12497>
- Van de Velde, F., Grace, M. H., Esposito, D., Pirovani, M. É., & Lila, M. A. (2016). Quantitative comparison of phytochemical profile, antioxidant, and anti-inflammatory properties of blackberry fruits adapted to Argentina. *Journal of Food Composition and Analysis*, 47, 82–91.
<http://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.01.008>
- Zheng, H. Z., Kim, Y. Il, & Chung, S. K. (2012). A profile of physicochemical and antioxidant changes during fruit growth for the utilisation of unripe apples. *Food Chemistry*, 131(1), 106–110.
<http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.038>

6. CONCLUSÃO

Esta pesquisa revelou que as folhas espécie *Pereskia aculeata* Mill possui benefícios nutricionais, como altos níveis de proteínas e fibras alimentares, além de ser fonte natural de antioxidantes. Todas as amostras apresentaram teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método fosfomolibdênio. O teor de flavonoides totais encontrado em algumas amostras foi significativo, assim como baixas concentrações para inibição do radical DPPH e altos índices antioxidantes pelo método TBARS. O teor de β -caroteno das folhas da ora-pro-nobis encontrado é classificado como muito alto.

Em relação à atividade hemolítica, os resultados indicam que o consumo das folhas de ora-pro-nobis é seguro apesar de algumas frações apresentarem porcentagens de hemólise. No estudo preliminar de avaliação de toxicidade, ambos os extratos brutos das folhas não apresentaram toxicidade, sendo que algumas frações apresentaram toxicidade moderada desde as primeiras 24h. Comprovou-se que, quanto maior tempo de exposição, maior probabilidade de se tornar tóxico ao organismo avaliado. Ensaio fitoquímico e de separação de compostos são necessários para identificar os agentes tóxicos, bem como análise da melhor forma de preparo do vegetal para consumo que diminua a formação de antinutrientes.

Em relação aos frutos, as análises de caracterização físico-química revelaram que, durante a maturação, apresentam aumento significativo os valores de pH, sólidos solúveis totais, glicose, frutose, sacarose, β -caroteno e licopeno, e redução significativa nos valores de fibras alimentares e ácidos cítrico e málico. O fruto maduro apresenta um alto teor de carotenoides, destacando o potencial antioxidante da OPN. O conhecimento sobre a composição de carotenoides nos frutos é útil para a seleção de novas fontes que possam ser utilizadas para fortificar alimentos/preparações e suprir as recomendações dietéticas. Os resultados indicam que o fruto pode ser incluído no hábito alimentar, além de ser uma alternativa de renda aos produtores agrícolas familiares.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI-COSTA, T. S. et al. Carotenoids profile and total polyphenols in fruits of *Pereskia aculeata* Miller. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 34, n. 1, p.234-238, 2012.
- AGOSTINI-COSTA, T. S. et al. Carotenoid composition of berries and leaves from a Cactaceae – *Pereskia* sp. **Journal Of Functional Foods**, v. 11, p.178-184, 2014.
- ALMEIDA, M. E. F.; CORRÊA, A. D. Utilização de cactáceas do gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. **Cienc. Rural**, v. 42, n. 4, p.751-756, 2012.
- ALMEIDA, M. E. F. et al. Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como *ora-pro-nobis*. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, p. 431-439, 2014.
- ANA. Articulação Nacional de Agroecologia. **Soberania e segurança alimentar na construção da agroecologia : sistematização de experiências**/organização Rigon, S. A. et al. Grupo de Trabalho em Soberania e Segurança Alimentar da Articulação Nacional de Agroecologia - GT SSA/ANA. 1.ed. Rio de Janeiro: FASE, 2010.
- BLANES, L. L.; ARAÚJO, W. L. M.; FERNANDES, V. Associativismo, Sistemas Agroflorestais e Produção Orgânica: uma estratégia para conservação e desenvolvimento no contexto rural da região cacauzeira da Bahia. In: **UZEDA, M. C. (org)**. O Desafio da Agricultura Sustentável – alternativas viáveis para o Sul da Bahia. Editus. Ilhéus. 130p. 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Alimentos regionais brasileiros/ Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde, Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição**. 1. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Hortaliças não-convencionais : (tradicionais) / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. Brasília : MAPA/ACS, 2010.
- BRITTON, G; KHACHIK, F. Carotenoids in foods. In G. Britton, S. Liaaenand H. E. Pfander (Eds.), **Carotenoids**, vol. 5, pg 45-66, Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser, 2009.
- CNRBMA. Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica. **Diretrizes Para A Política de Conservação e Desenvolvimento Sustentável da Mata Atlântica**. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. MMA.

Secretaria de Biodiversidade e Florestas. Caderno 13 – Série Políticas Públicas. 52p. 2003.

CONCEIÇÃO, M. C. et al. Thermal and microestructural stability of a powdered gum derived from *Pereskia aculeata* Miller leaves. **Food Hydrocolloids**, v. 40, p. 104-114, 2014.

COUTO, J. G. **Quatro autores em busca do Brasil**. Rio de Janeiro: Rocco, 2000, p.31-87.

DIAS, A. C. P. et al. Avaliação do consumo de hortaliças não convencionais pelos usuários das Unidades do Programa Saúde da Família (PSF) de Diamantina – MG. **Alim Nutr**, Araraquara, v. 16, n. 3, p. 279-84, 2005.

DUARTE, M. R.; HAYASHI, S. S. Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 15, n. 2, p.103-109, 2005.

EDWARDS, E. J.; NYFFELER, R.; DONOGHUE, M. J. Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. **American Journal Of Botany**, v. 92, n. 7, p.1177-1188, 2005.

GANEM, R. S. **Conservação da Biodiversidade: Legislação e Políticas Públicas** - Brasília: Câmara dos Deputados, Edições Câmara, 436 p., 2010.

GARCIA, R. W. D. Reflexos da globalização na cultura alimentar: considerações sobre as mudanças na alimentação urbana. **Rev. Nutr.**, Campinas, 16(4):483-492, 2003.

HUNT, D., TAYLOR, N. P.; CHARLES, G. **The new cactus lexicon**. Vol. 2. DH Books, Milborn Port. 526p., 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares, 2002-2003**. Rio de Janeiro, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares, 2008-2009**. Rio de Janeiro, 2010.

KINUPP, V. F. Plantas alimentícias não-convencionais (PANCs): uma riqueza negligenciada. **Anais da 61ª Reunião anual da SBPC** Manaus, AM, 2009.

MERCÊ, A. L. R. et al. Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeata* and Co²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, and Ni²⁺. **Bioresource Technology**, v. 76, n. 1, p.29-37, 2001.

MMA. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Monitoramento *in situ* da biodiversidade: Proposta para um Sistema Brasileiro de Monitoramento da Biodiversidade**/Raul Costa Pereira, Fabio de Oliveira Roque, Pedro de Araujo Lima Constantino, José Sabino, Marcio Uehara-Prado. Brasília/DF: ICMBio, 2013.

MONTEIRO, C. A., MONDINI, L., COSTA, R.B.L. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil. **Rev. Saúde Pública**, 34:3, 2000.

OLIVEIRA, D. C. S. et al. Composição mineral e teor de ácido ascórbico nas folhas de quatro espécies olerícolas não-convencionais. **Hortic. Bras.**, v. 31, n. 3, p.472-475, 2013.

ORTIZ, R. **Mundialização e cultura**. 2ed. São Paulo: Brasiliense, 234p, 1994.

PATERSON, I. D. et al. A pre-release assessment of the relationship between the invasive alien plant, *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae), and native plant biodiversity in South Africa. **Biological Control**, v. 57, n. 1, p.59-65, 2011.

PÉREZ-MOLPHE-BALCH, E. et al. Tissue culture of ornamental cacti. **Sci. Agric. (piracicaba, Braz.)**, v. 72, n. 6, p.540-561, 2015.

PINTO, N. C. C., et al. Cytotoxic and antioxidant activity of *Pereskia aculeata* Miller. **Pharmacology Online**, Itália, v. 3, p. 63-69, 2012.

ROSA, S. M.; SOUZA, L. A. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 415-28, 2003.

ROCHA, D. R. C. et al. Macarrão adicionado de ora-pro-nóbis (*Pereskia* SARTI, F.M., CLARO, R.M., BANDONI, D.H). Contribuições de estudos sobre demanda de alimentos à formulação de políticas públicas de nutrição. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 27 (4):639-647, abril, 2011.

SARTOR, C.F.P., et al. Estudo da ação cicatrizante das folhas de *Pereskia aculeata*. **Rev Saúde e Pesquisa**, v. 3, n. 2, p. 146-154, 2010.

SCHMITT, C. J. Encurtando o caminho entre a produção e o consumo de alimentos. **Revista Agriculturas: experiências em agroecologia**, v.8, n.3. Set. 2011.

SECRETARIADO. Convenção sobre Diversidade Biológica, **Panorama da Biodiversidade Global 3**. Brasília, Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas (MMA), 2010, 94 p. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_chm_rbbio/_arquivos/gbo3_72.pdf>. Acesso em 10/02/2015.

SOLLER, A. et al. Cactaceae no estado do Paraná. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 65, n. 1, p. 201-219, 2014.

SOUSA, R.M.F., et al. Atividade antioxidante de extratos de folhas de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) usando métodos espectrofotométricos e voltamétricos *in vitro*. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, p. 448-457, 2014.

SOUZA, L. A.; ROSA, S. M. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 25, n. 2, p.415-428, 18, 2003.

SOUZA, M. R. M., et al. O potencial do ora-pro-nobis na diversificação da produção agrícola familiar. **Rev. Bras. de Agroecologia**, v. 4, n. 2, 2009.

STEENBOCK, W. et al. Agrofloresta, ecologia e sociedade. 1. ed. Curitiba: Kairós, 2013. v. 1. 422p.

TACO - **Tabela Brasileira de Composição de alimentos**. TACO NEPA – UNICAMP.- 4. Ed. Rev. e Ampl.. - Campinas: NEPA - UNICAMP, 2011.

TAKEITI, C. Y. et al. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal Of Food Sciences And Nutrition**, v. 60, n. 1, p.148-160, 2009.

TOFANELLI, M. B. D.; RESENDE, S. G. Sistemas de condução na produção de folhas de Ora-pro-nobis. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 3, p.466-469, 2011.

TURRA, A. F., et al. Avaliação das propriedades antioxidantes e susceptibilidade antimicrobiana de *Pereskia grandifolia* Haworth (Cactaceae). **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, Umuarama, v. 11, n. 1, p. 9-14, jan/abr 2007.

ANEXO 1 - EXSICATA
MUSEU BOTÂNICO MUNICIPAL (MBM) DE CURITIBA-PR





Prefeitura Municipal de Curitiba
Secretaria Municipal do Meio Ambiente
Superintendência de Obras e Serviços
Departamento de Produção Vegetal
Divisão do Museu Botânico Municipal

Curitiba, 27 de novembro de 2015.

DECLARAÇÃO

Declaro para os fins que se fizerem necessários que foi tombada no acervo do Herbário do Museu Botânico Municipal (Herbário MBM) uma exsicata de uma planta coletada pela pesquisadora Bruna Isadora Tremepohl, sem número de coleta, sob orientação do Prof. Dr. Obdúlio G. Miguel.

A referida planta, conhecida popularmente como or-pro-nobis, pertence à família Cactaceae e seu nome científico é *Pereskia aculeata* Mill.

Foi coletada em 30/07/2015, no ponto de coordenadas geográficas 25°25'49,3"S e 49°15'27,5"W, em Curitiba, Estado do Paraná, sendo identificada por Motta, J.T. em 20/11/2015.

Recebeu, como registro de tombamento, o número **341967** e está depositada no acervo do Herbário MBM à disposição da comunidade científica para todas e quaisquer eventuais consultas.

Por ser verdade, firmo a presente.

JOSÉ TADEU WEIDLICH MOTTA
Curador do Herbário MBM

MUSEU BOTÂNICO MUNICIPAL – HERBÁRIO MBM
Fone: (41) 3362-1800 Fax: (41) 3264-7365

– Caixa Postal 1142 – CEP 80.001 – 970 – Curitiba – Paraná
e-mail: herbariombm@sma.curitiba.pr.gov.br

ANEXO 2 – AUTORIZAÇÃO DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO



3425834357251855

AUTORIZAÇÃO DE ACESSO E DE REMESSA DE AMOSTRA DE COMPONENTE DO PATRIMÔNIO GENÉTICO nº 010004/2015-7

O CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO - CNPq, credenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/MMA), por meio da Deliberação CGEN nº 246, de 27 de agosto de 2009, para autorizar instituições nacionais, públicas ou privadas, que exerçam atividades de pesquisa e desenvolvimento nas áreas biológicas e afins, a acessar e remeter amostras de componente do patrimônio genético para fins de pesquisa científica sem potencial de uso econômico, neste ato representado pelo seu Diretor de Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde, nos termos da Portaria CNPq nº 104/2011, autoriza a instituição abaixo qualificada a acessar e remeter amostras de componentes do patrimônio genético.

Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - UFPR

CNPJ: 750.956.790/0001-49

Representante Legal: GRACIELA INES BOLZON DE MUNIZ

Cargo/Função: Coordenadora de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico

CPF: 674.273.759-04 **RG:** 1439536

Projeto: QUALIDADE NUTRICIONAL E FITOQUÍMICA DE FRUTOS DA SOCIOBIODIVERSIDADE

Coordenador do Projeto: Sila Mary Rodrigues Ferreira

CPF: 231.917.400-15 **RG:** 3658868 - SSP / PR

Finalidade do projeto: Mesmo sendo o Brasil um país rico em biodiversidade poucas espécies são estudadas pelos pesquisadores brasileiros. A valorização e a promoção do conhecimento de frutos da nossa biodiversidade é um passo importante para o reconhecimento dessa riqueza e para a Segurança Alimentar e Nutricional da população que utiliza esses frutos como fonte alimentar e de renda. Desta forma, o presente projeto tem como objetivo determinar a qualidade nutricional e fitoquímica de frutos da sociobiodiversidade. O delineamento experimental envolverá a coleta de aproximadamente 15 kg de frutos em diferentes estádios. Após a colheita os frutos serão transportados ao laboratório em caixas de embalagens de PEAD. Os frutos serão classificados nos diferentes estádios de maturação, armazenados à temperatura e submetidos à análise física, físico-química e fitoquímica. Após as análises físicas, os frutos serão descascados e as partes separadas (casca, sementes e polpa). Posteriormente serão realizadas as análises físico-químicas, com a fruta in natura, para cada parte (casca, polpa, semente e folhas). Para as análises fitoquímicas as cascas e polpa serão congeladas e liofilizadas. Espera-se que a caracterização dos frutos contribua para o conhecimento, utilização e agregação de valor dos frutos como forma de melhorar a renda das comunidades tradicionais.

Amostras a serem acessadas:

Grupos Taxonômicos: Os frutos avaliados serão: Jacaratia spinosa (Aubl) A.DC, conhecido como Jaracatiá ou mamão do mato; Morus nigra L., amora; Pereskia aculeata Miller, Ora-pro-nobis; Acca sellowiana (Berg) Burret), Goiabinha do Mato; Eugenia pyriformis, Uvaia; Psidium cattleianum, Araçá; Solanum sessiliflorum, Manacubi; Syzygium malaccense, Jambo e Passiflora actinia Hook ou maracujá-do-mato ou maracujá-silvestre. Previsão da coleta: Início da coleta: 20 de janeiro de 2015 a Janeiro de 2019

Tipo de material/quantidade de amostras: 15 kg por espécie estudada

Local de depósito de subamostra: Museu Botânico Municipal - MBM/MBM

Equipe do projeto: SILA MARY RODRIGUES FERREIRA / CPF 231.917.400-15

OBDULIO GOMES MIGUEL / CPF 230.507.729-72

HELLEN ABREU / CPF 077.941.119-60

CRISTIANE FAGUNDES / CPF 044.504.099-81

IZABELLA CLOTILDE MARINHO DE ABREU / CPF 088.083.809-47

LUIZA BUZATTO SCHEMIKO / CPF 078.320.479-50

JOSIANE DE FATIMA GASPARI DIAS / CPF 719.581.189-15

DEBORA LUISE GUNHA / CPF 052.311.769-82

MONICA DE CALDAS ROSA DOS ANJOS / CPF 889.379.099-87

BRUNA ISADORA TRENNEPOHL / CPF 045.417.729-14

CELLEN GIACOMELLI GROTH LUIZ / CPF 022.763.819-06

Validade da Autorização: 15/01/2015 a 15/01/2019

A instituição acima qualificada deverá enviar ao CNPq, por meio do Coordenador do Projeto, relatório anual sobre o andamento do projeto de pesquisa, nos termos do Decreto nº. 4.946/2003. O roteiro para confecção do relatório está disponível em <http://www.cnpq.br/web/guest/relatorio-de-atividades>. Os relatórios devem ser enviados ao CNPq em meio eletrônico, para o endereço apg@cnpq.br e, preferencialmente, em formato .pdf.

Esta autorização está vinculada às informações, declarações e termos de compromisso firmados pelo coordenador do projeto e pelo representante legal, constantes do Processo nº 010004/2015-7. Atividades de acesso aos conhecimentos tradicionais associados, de acesso e de remessa de componente do patrimônio genético com finalidade comercial, aplicação industrial, bioprospecção ou desenvolvimento tecnológico não estão autorizadas.

Caso seja identificado uso econômico de produto ou processo, passível ou não de proteção intelectual, originado das amostras de componente do patrimônio genético acessado no âmbito desta autorização, a instituição beneficiada se compromete a adotar as providências cabíveis, nos termos da legislação vigente, junto ao CGEN/MMA.

Se ocorrer coleta de espécie não autorizada ou não identificada, deverá ser observado o que consta no Decreto nº 6.514, de 22/07/2008, no que refere à flora e fauna, e em particular sobre espécies ameaçadas de extinção ou de endemismo estrito.

A remessa de amostra de componente do patrimônio genético deverá ser precedida da assinatura do Termo de Transferência de Material (TTM) ou do Termo de Responsabilidade para Transporte de Amostra de Componente do Patrimônio Genético (TRTM). A remessa para instituições nacionais está isenta de autorização prévia. Contudo, a remessa para instituições sediadas no exterior depende de autorização prévia do CNPq, nos termos das resoluções do CGEN 15/2004 e 20/2006. Os modelos dos termos, assim como as citadas resoluções, estão disponíveis em <http://www.cnpq.br/web/guest/remessa-e-transporte> e devem ser enviados ao CNPq em meio eletrônico para o endereço apg@cnpq.br, preferencialmente em formato .pdf. Ainda, para a remessa de componente do patrimônio genético para instituição sediada no exterior, deverá ser solicitada ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, por meio de formulário específico e mediante a apresentação de TTM ou TRTM, licença de exportação complementar a autorização de remessa, especialmente quando se tratar de remessa de espécies constantes nos Anexos da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (Cites).

Brasília, 07 de Janeiro de 2015

Marcelo Marcos Morales

Diretor de Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde

Para visualizar a versão digital da Autorização de Acesso e de Remessa de Amostra de Componente do Patrimônio Genético, V.Sa. poderá utilizar a ferramenta disponibilizada pelo CNPq para esse fim na página <http://servicosweb.cnpq.br/visualizador/> e informar o número do protocolo 3425834357251855 para recuperá-la do banco de dados do CNPq, ou poderá selecionar o arquivo salvo em seu computador (em formato PKCS7). V.Sa. pode também usar outro aplicativo disponível no mercado capaz de reconhecer arquivos no padrão PKCS7 para fazer a visualização e extração do documento.